

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Untersuchungen zur viruziden Wirksamkeit von chemischen
Desinfektionsmitteln bei verschiedenen Temperaturen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Patricia Bremer

Gießen 2003

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

**Untersuchungen zur viruziden Wirksamkeit von chemischen
Desinfektionsmitteln bei verschiedenen Temperaturen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Patricia Bremer
Tierärztin aus Frankfurt am Main

Gießen 2003

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan:

Prof. Dr. Dr. h. c. Bernd Hoffmann

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Gerd Wengler

Tag der mündlichen Prüfung:

17.11.2003

INHALTSVERZEICHNIS	Seite
1. EINLEITUNG	5
2. LITERATUR	6
2.1. Desinfektion	6
2.1.1. Begriffsbestimmungen	6
2.1.2. Desinfektion in der Tierhaltung	8
2.1.3. Verfahren zur Desinfektion und Sterilisation	9
2.1.4. In der Veterinärmedizin verwendete Desinfektionswirkstoffe und ihre Wirkungsmechanismen	13
2.1.4.1. Wirkungsspektrum	13
2.1.4.1.1. Viruzide Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln	14
2.1.4.2. Für die Veterinärmedizin bedeutsame Desinfektionsmittel und bekannte Wirkungsmechanismen	15
2.1.4.2.1. Aldehyde	15
2.1.4.2.2. Alkalien	17
2.1.4.2.3. Alkohole	18
2.1.4.2.4. Organische Säuren	18
2.1.4.2.5. Oxidationsmittel	20
2.1.4.2.6. Phenole und Phenolderivate	23
2.1.4.2.7. Oberflächenaktive Stoffe	24
2.1.4.2.8. Schwermetalle	25
2.1.4.2.9. Biguanide und polymerisierte Biguanide	26
2.1.4.2.10. Desinfektionsmittelmischungen	27
2.1.5. Faktoren, die die chemische Desinfektion beeinflussen	28
2.1.6. Verfahren zur Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel in Deutschland	33
2.1.6.1. Richtlinien der DVG	34
2.1.6.2. Richtlinien der DGHM	35
2.1.6.3. Richtlinien der DLG	36

2.1.7. Zulassung und Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln im Rahmen der Harmonisierungsbestrebungen der EG	36
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	39
3.1. Material und Methoden	39
3.1.1. Testviren	39
3.1.2. Zellkulturen	39
3.1.3. Virusvermehrung	40
3.1.4. Bestimmung des Infektiositätstiters	40
3.1.5. Desinfektionsmittel	41
3.1.6. Sensorische Prüfung der Desinfektionsmittel	42
3.1.7. Prüfung der viruziden Wirkung im Suspensionsversuch	42
3.1.8. Temperatur	43
3.1.9. Wiederholungsversuche	44
3.1.10. Bestimmung der Korrekturfaktoren	44
3.2. Ergebnisse	45
3.2.2. Ergebnis der sensorischen und optischen Prüfung der verwendeten Desinfektionsmittel	45
3.2.2. Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel gegenüber EAV und ECBO- Virus bei verschiedenen Temperaturen im Suspensionsversuch	46
3.2.2.1. Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel unter Verwendung von EAV als Testvirus	47
3.2.2.1.1. Formaldehyd	47
3.2.2.1.2. Natriumhypochlorit	50
3.2.2.1.3. Ameisensäure	54
3.2.2.1.4. Peressigsäure	56
3.2.2.1.5. Aldekol-Des-02	57
3.2.2.1.6. Divosan SD	59
3.2.2.1.7. Orbivet	61
3.2.2.1.8. Proxitane AHC	62

3.2.2.1.9.Venno Vet 1 Super	65
3.2.2.1.10.Halamid	67
3.2.2.2. Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel unter Verwendung von ECBO als Testvirus	69
3.2.2.2.1.Formaldehyd	69
3.2.2.2.2.Natriumhypochlorit	72
3.2.2.2.3.Ameisensäure	75
3.2.2.2.4.Peressigsäure	76
3.2.2.2.5.Aldekol-Des-02	77
3.2.2.2.6.Divosan SD	80
3.2.2.2.7.Orbivet	83
3.2.2.2.8.Proxitane AHC	86
3.2.2.2.9.Venno Vet 1 Super	88
3.2.2.2.10.Halamid	90
3.2.3.Temperaturfaktoren $TF_K^{4^\circ}$ (K=Konzentration) und $TF_E^{4^\circ}$ (E=Einwirkungszeit) verschiedener Desinfektionsmittel für eine wirksame Desinfektion bei 4°C	93
4. DISKUSSION	95
5. ZUSAMMENFASSUNG	106
6. SUMMARY	108
7. LITERATURVERZEICHNIS	111

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.dest.	:	Aqua destillata
CCL	:	Certified cell Lines
CpE	:	Cytopathischer Effekt
DM	:	Desinfektionsmittel
DVG	:	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
EAV	:	Equines Arteritis Virus
ECBO	:	Enteritic Cytopathogenic Bovine Orphan
FKS	:	fötales Kälberserum
IE	:	Internationale Einheiten
KID ₅₀	:	50 %ige kulturinfektiöse Dosis
MEM	:	Minimal Essential Medium
Min	:	Minuten
moi	:	multiplicity of infection
PBS	:	Phosphate buffered saline
SV	:	Suspensionsversuch
Upm	:	Umdrehungen pro Minute
xg	:	x mal die Schwerkraft

1. EINLEITUNG

Infektionskrankheiten sind unzweifelhaft das größte Problem in der Nutztierhaltung. Die Größenzunahme der Tierbestände sowie der intensive Verkehr mit Tieren, tierischen Erzeugnissen und Abfällen aus der tierischen Produktion in den letzten Jahren führte zu einem zunehmendem Risiko einer Erregereinschleppung und –verbreitung. Ein Ausweg bietet die gefahrenorientierte Intensivierung betriebshygienischer Maßnahmen. Im Bereich der Schweinemast und -zucht wurde z.B. diesem erhöhten Risiko durch Erlass einer Schweinehaltungshygieneverordnung (Bgl. I. Nr. 29 vom 11. Juni 1999, S.1252) Rechnung getragen.

Unter den auf eine ständige Infektionsprophylaxe ausgerichteten Maßnahmen hat die Reinigung und Desinfektion einen beachtlichen Stellenwert. Die Verhinderung der Übertragung unerwünschter Mikroorganismen ist jedoch nur erreichbar, wenn das Desinfektionsmittel eine ausreichende mikrobiozide Wirksamkeit aufweist. Diese Wirksamkeit muss unter den gegebenen Anwendungsbedingungen beibehalten werden, denn das Umweltmilieu kann zu erheblichen Wirksamkeitsverlusten führen. Dieses Problem gilt im besonderen für die Desinfektion von den mit organischen Materialien stark belasteten Tierställen.

In der Veterinärmedizin werden daher Desinfektionsmittel bevorzugt, bei deren Prüfung (Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, DVG) wichtige in der Tierhaltung anzutreffende Belange, die für eine Beeinträchtigung der Wirksamkeit der Desinfektion in Frage kommen, wie die erhöhte "Schmutzbelastung" und das Vorhandensein rauer, rissiger Oberflächen (Holz) berücksichtigt werden. Interessanterweise wird aber bei diesen Prüfungen der Einfluss der Temperatur nicht berücksichtigt. Die Prüfung der Desinfektionsmittel erfolgt innen bei einer Temperatur von 20°C, obwohl die Temperaturen an den Oberflächen der Stallgebäude, am Boden und der Stalleinrichtung im Jahresdurchschnitt lediglich ca. 10°C betragen. Es ist aus Versuchen mit Bakterien als Prüfkeimen bekannt, dass bestimmte Desinfektionsmittel wie z.B. Formaldehyd oder Ameisensäure mit Abnahme der Temperatur an Wirksamkeit verlieren. Entsprechend umfangreiche Versuche mit Viren liegen nicht vor. Obwohl der größte Anteil kommerziell erhältlicher Desinfektionsmittel bestehen aus Wirkstoffmischungen besteht, mangelt es an

Kenntnissen über die viruzide Wirksamkeit von Wirkstoffmischungen bei niedrigen Temperaturen. Die wenigen Anwendungsempfehlungen (Konzentration und Einwirkungszeit) gehen, wie bereits angeführt, auf Wirksamkeitsprüfungen bei 20°C zurück.

Durch die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, ob und in welchem Umfang bei der Anwendung chemischer Desinfektionsmittel gegenüber Viren bei Temperaturen unter 20°C ein Wirksamkeitsverlust auftritt. Die Versuche wurden unter Verwendung eines behüllten und eines unbehüllten Testvirus durchgeführt und schlossen sowohl chemische Grundsubstanzen als auch kommerziell erhältliche Desinfektionsmittel ein. Auf der Basis der Ergebnisse bei Temperaturen unter 20°C waren anschließend Korrekturfaktoren zu erarbeiten, die im Hinblick auf eine sichere Desinfektion eine Anpassung der Anwendungsempfehlung an die gegebene Situation ermöglichen sollte.

2. LITERATUR

2.1. Desinfektion

2.1.1. Begriffsbestimmungen

Die ursprüngliche etymologische Bedeutung des Wortes Desinfektion (de = ent; infiziere = anstecken = “Verhinderung einer Ansteckung”) charakterisiert den Begriff nicht vollständig, da nicht nur Infektionsherde, sondern auch die Übertragungswege durch die Desinfektion erfasst werden sollen (SCHLIESSER, 1981).

Ihrem Wesen nach kann man die Desinfektion ebenso wie die Begriffe “Sterilisation”, “Antisepsis” und “Asepsis” unter dem Oberbegriff “Entkeimung” zusammenfassen. All diese Verfahren haben gemeinsam, dass sie etwas “frei von Mikroorganismen” machen (REBER, 1973).

Desinfektion und Sterilisation unterscheiden sich vor allem darin, dass die Desinfektion nur ein beschränktes Spektrum von Mikroorganismen erfasst, wohingegen die Sterilisation die Abtötung aller Mikroorganismen einschließlich der besonders widerstandsfähigen Bakteriensporen umfasst.

Die Antiseptik umfasst alle Maßnahmen zur Hemmung bzw. Verminderung von Keimen auf der Körperoberfläche, Wunden und Schleimhäuten. Die Asepsis beschreibt alle Maßnahmen mit dem Ziel der Keimfreiheit zur Verhütung einer Infektion mit Mikroorganismen und die Verhinderung einer Ausbreitung von Krankheitserregern (STEUER; LUTZ-DETTINGER, 1990 und WALLHÄUSER, 1984).

Der vor allem in Kanada und den USA verwendete Begriff „sanitization“ beschreibt die Gesamtheit aller Maßnahmen, die eine generelle Verminderung des Keimgehaltes auf ein hygienisch vertretbares Maß bewirken. Dies erfasst neben der Desinfektion auch regelmäßige Reinigungsprozeduren sowie bauliche und organisatorische Maßnahmen (Schleusen, Trennung von kontaminierten und nicht kontaminierten Gegenständen, Einweggeräte und Schutzkleidung) (WALLHÄUSER, 1984).

Nach REBER (1981) ist die Desinfektion als gezielte Eliminierung bestimmter unerwünschter Mikroorganismen zu verstehen, mit dem Ziel, ihre Übertragung zu verhindern.

Der Begriff der "Eliminierung von Mikroorganismen" ist jedoch nach FLAMM et al. (1983) nicht ganz korrekt, da die Mikroorganismen nach erfolgter Desinfektion weiterhin präsent blieben.

Diskutiert wurde auch, ob von einem Desinfektionsverfahren zu verlangen ist, dass alle Individuen der unerwünschten Mikroorganismen inaktiviert werden. Die Menge der überlebenden Mikroorganismen sei schließlich für die Brauchbarkeit eines Verfahrens ausschlaggebend.

Als Konsequenz wurde vorgeschlagen, die "Desinfektion als eine gezielte Reduktion der Anzahl bestimmter unerwünschter vermehrungsfähiger Mikroorganismen durch chemische oder physikalische Inaktivierung zu bezeichnen, so dass sie unter den gegebenen Umständen keine Schäden (Infektion, Verderbnis) mehr verursachen können" (FLAMM et al., 1983).

2.1.2. Desinfektion in der Tierhaltung

In der Tierhaltung zwischen der amtlichen und der allgemein-prophylaktischen Desinfektion unterschieden (STRAUCH, 1981 und MAYR, 1983).

Die amtliche Desinfektion dient im Rahmen der staatlichen Bekämpfung von Tierseuchen als flankierende Maßnahme zur Eliminierung des Seuchenerregers bei Seuchenausbruch und zur gezielten „prophylaktischen“ Desinfektion bei Seuchengefahr.

Die Maßnahmen sind in den „Richtlinien des Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei anzeigepflichtigen Seuchen“ aufgeführt.

Bei der allgemein-prophylaktischen Desinfektion geht es weniger um eine gezielte Inaktivierung ganz bestimmter Krankheitserreger, sondern um eine Reduktion des Gesamtkeimgehaltes auf den Stalloberflächen.

Ein zunehmender, stallspezifischer Keimgehalt, an dem in erster Linie fakultativ pathogene Mikroorganismen und ubiquitär vorkommende apathogene Keime beteiligt sind, kann Ursache für das Phänomen der sogenannten Stallmüdigkeit sein. Diese zeigt sich in einem Leistungsabfall der Tiere ohne eindeutige klinische Symptome. Besonders betroffen sind hiervon Anlagen mit hoher Tierkonzentration (Intensivtierhaltung).

Als Prophylaxe wurde empfohlen, durch Reinigung und allgemein-prophylaktische Desinfektionsmaßnahmen den Gesamtkeimgehalt vor einer Neubelegung auf ca. 10^3 Keime pro cm^2 Oberfläche zu reduzieren.

In Beständen mit hohen Tierzahlen sollten sogar Werte von 10^2 Keimen pro cm^2 angestrebt werden (STEIGER et al., 1982).

Bei der allgemein-prophylaktischen Desinfektion ist je nachdem, ob ein Stall ständig belegt bleibt oder zumindest eine periodische Räumung von raummäßig abgegrenzten Abteilungen erfolgen kann, zwischen der Schlussdesinfektion und der periodischen Desinfektion zu unterscheiden.

Die *Schlussdesinfektion* wird nach vollständiger Räumung des Stalles durchgeführt. Mit ihr lässt sich der höchste Wirkungsgrad erreichen, da bei der Reinigung und der Desinfektion keine Rücksicht auf noch vorhandene Tiere genommen werden muss (SCHLIESSER, 1974).

Die *periodische Desinfektion* in laufend belegten Ställen ist dagegen in ihrer Wirksamkeit als problematischer anzusehen, da die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen nur Teile des Stalles erfassen. Sie wird daher von STRAUCH (1981) auch als eine Desinfektion mit begrenzter Wirksamkeit beschrieben und stellt lediglich einen Kompromiss zu der Schlussdesinfektion dar.

2.1.3. Verfahren zur Desinfektion und Sterilisation

Für die Desinfektion, Sterilisation bzw. Konservierung stehen physikalische und chemische Verfahren zur Verfügung.

Zu den physikalischen Inaktivierungsverfahren zählen die Anwendung von thermische Verfahren, UV-Licht und ionisierenden Strahlen (SCHLIESSER, 1981).

-Thermische Verfahren

Ihre Anwendung kann in Form von trockener und feuchter Hitze erfolgen.

Feuchte Hitze ist bei gleicher Temperatur wesentlich wirksamer als trockene Hitze, da der Wärmehalt feuchter Luft erheblich größer ist als der von trockener Luft.

Die Geschichte der Desinfektion geht auf die positiven Erfahrungen bei der Erhitzung von biologischen Materialien zurück. In diesem Zusammenhang sind im besonderen die Versuche von SPALLANZANI (1769) als wegweisend zu bezeichnen. Er konnte zeigen, dass in einem hermetisch verriegeltem Topf erhitzte Flüssigkeiten ihre Haltbarkeit lange Zeit beibehalten. Kurze Zeit später wurde von dem französischen Koch APPERT (1809) die „Konservendose“ für Nahrungsmittel eingeführt und Mitte des 19. Jahrhunderts konnte erstmals Milch durch Erhitzung auf 110°C haltbar gemacht werden (SCHRÖDER, 1859 und PASTEUR, 1864). Ende des 19. Jahrhunderts befasste man sich intensiv mit der Wirkung von feuchter und trockener Hitze auf Bakterien (KOCH, 1881). Erwähnenswert sind die von KOCH (1890) beschriebenen Verfahren zur Anwendung trockener Hitze zur Desinfektion.

Auch heute noch ist in der Lebensmittelindustrie die Anwendung von Hitze das gebräuchlichste Verfahren für die Haltbarmachung (Konservendosen, pasteurisierte Milch etc.). Bei der Pasteurisierung wird z.B. durch unterschiedlich langes Erhitzen auf verschiedenen Temperaturstufen zwischen 64°C und 85°C und anschließender schneller Abkühlung eine „Teildesinfektion“ (= Konservierung) erreicht.

Der Apotheker WÖLM entdeckte anfangs dieses Jahrhunderts, dass durch Hitzeeinwirkung nicht nur eine Steigerung der Haltbarkeit bewirkt werden kann, sondern auch eine „Keimfreiheit“ des behandelten Gutes erreicht wird. Er führte die im Ausland schon länger bekannte Ampulle für Injektionsstoffe ein, die auch heute noch ebenso wie die Hitzesterilisation in der Herstellung von „Injectabilia“ Verwendung findet (LAUTENSCHLÄGER, 1954).

Diese frühen Erkenntnisse über die Hitzeeinwirkung besitzen auch heute noch ihre Gültigkeit. So werden z.B. in Laboratorien infektiöse Materialien in Druckkesseln erhitzt, um eine Reinigung und Inaktivierung pathogener oder infektiöser Keime zu erreichen.

-UV- Licht

Die „keimschädigende“ Wirkung des Sonnenlichtes ist seit langem bekannt (DOWES; 1877), jedoch konnten erst Mitte des 20. Jahrhunderts die Kenntnisse über die biologische Wirkung von Strahlen in der Medizin genutzt werden.

Die mikrobizide Wirkung der UV- Strahlung erstreckt sich über den Wellenbereich von 315-200 nm, wobei das Wirkungsoptimum bei ca. 253,7 nm liegt. UV- Strahlen besitzen eine geringe Eindringtiefe, da sie von der Materie sehr schnell absorbiert werden und somit nur eine Keimverminderung auf der Oberfläche von festen und flüssigen Materialien bewirken.

Der Angriffspunkt der UV- Strahlen in der Mikroorganismenzelle ist die Nukleinsäure. Es entstehen durch die Strahlung Veränderungen an der DNA- Struktur, die zur Störung der Replikation und der Proteinsynthese und letztlich zum Zelltod führen (HAYNES, 1964 und STEUER; LUTZ-DETTINGER, 1990).

Bei Untersuchungen des antimikrobiellen Wirkspektrums des UV- Lichtes fiel auf, dass gramnegative Bakterien am empfindlichsten reagieren, gefolgt von grampositiven Bakterien, Bazillussporen, Mikrokokken, Hefen, Schimmelpilzen und Viren. UV- Strahlen werden häufig als zusätzliche Desinfektionsmaßnahme angewendet, um z.B. die Keimzahlen in der Luft und auf den Oberflächen von Arbeitsplätzen in Laboratorien herabzusetzen. Daneben werden UV- Strahler vor allem in den Verarbeitungsräumen der Lebensmittel- und

Pharmaindustrie als zusätzliche Maßnahme zur Keimverminderung eingesetzt. In einigen Ländern finden sie zur Aufbereitung von Trinkwasser Anwendung. Insgesamt wird dem UV-Licht wegen seiner geringen Eindringtiefe in der Praxis nur eine untergeordnete Bedeutung unter den Desinfektionsmaßnahmen beigemessen (WALLHÄUSER, 1984).

-Ionisierende Strahlen

Ionisierende Strahlen werden fast ausschließlich zu Sterilisationszwecken eingesetzt. Ionisationsstrahlung ist eine besonders energiereiche Strahlung, die aufgrund ihrer Herkunft und ihrer Wirkung verschiedenen Gruppen zugeordnet wird. Die wenig eingesetzten Alphastrahlen (α - Strahlen), die von Heliumkernen ausgesandt werden, entstehen z.B. beim Zerfall von Uran. Häufiger eingesetzt werden die Elektronenstrahlen (Betastrahlen), Gammastrahlen und die Röntgenstrahlen, wobei die Gammastrahlen den kurzwelligen, harten Röntgenstrahlen entsprechen. Die Betastrahlen werden mit Geräten erzeugt, die beschleunigte Elektronen von einigen Millionen Elektronenvolt abgeben. Teilweise werden Betastrahlen auch von radioaktiven Elementen ausgesandt. So geht auch die Gammastrahlung von natürlichen oder künstlichen radioaktiven Elementen aus. Man verwendet hauptsächlich Kobalt 60- Quellen für die Strahlenbehandlung. Als erster erkannte RÖNTGEN (1896) den Gebrauchswert von ionisierender Strahlung durch seine Entdeckung der X- Strahlen. Noch im 19. Jahrhundert wurde von MINCK über die Wirkung von „Röntgen“- Strahlen auf Bakterien berichtet. In den folgenden Jahrzehnten haben sich immer wieder Wissenschaftler mit der Wirkung energiereicher Strahlen auf Mikroorganismen befasst. Jedoch erst seit Entwicklung der Kerntechnik standen genügend starke Strahlungsquellen zur Verfügung, um diese im Sinne einer „Entkeimung“ einzusetzen. Der erste Einsatz hierzu fand 1940 statt, als durch Elektronenbeschleunigungsanlagen bakteriell verunreinigte Lebensmittel sterilisiert wurden. Seit Mitte des 20. Jahrhunderts wurden die Wissenschaftler auf die bei der Atomspaltung entstehenden radioaktiven Isotope und ihre Einsatzmöglichkeiten aufmerksam. Es zeigte sich, dass die Wechselwirkung zwischen Strahlung und Materie auf einer Ionisation beruht, die direkt oder indirekt auf die Zelle wirken kann. Die direkte Wirkung besteht in der Aktivierung bzw. Aufspaltung der Moleküle (WORSEK, 1960/61). Als indirekte Wirkung folgen chemische Reaktionen, die den Organismus selbst oder die Erbanlagen (DNS) schädigen. Nach den bisherigen Untersuchungen, die meist an Bakterien durchgeführt wurden, gilt der Zellkern und damit die DNS bzw. RNS als der strahlenempfindlichste Teil der Zelle (WIGGERT et al, 1974).

Die Empfindlichkeit gegenüber ionisierenden Strahlen ist sehr unterschiedlich. So sind gramnegative Bakterien am empfindlichsten, Viren und Bakteriensporen am resistantesten. In ihrer Empfindlichkeit dazwischen liegen grampositive Bakterien, Schimmelpilze und Hefen (POWELL und BRIDGES, 1960).

Eingesetzt werden ionisierende Strahlen bei der Behandlung von medizinischen Produkten wie Nahtmaterial, Verbandstoffe, Mull etc. Im pharmazeutischen Bereich findet die Strahlensterilisation besonders bei der Behandlung von Rohstoffen, allen voran der Antibiotika, Verwendung; weiterhin werden sie zur Sterilisation von Verpackungsmaterialien genutzt.

Daneben werden ionisierende Strahlen auch zur Pasteurisierung von Lebensmitteln eingesetzt, wodurch eine Haltbarkeitsverbesserung (Strahlenkonservierung) durch die Inaktivierung pathogener Keime wie Salmonellen, Shigellen usw. erreicht werden kann. Die Strahlenkonservierung reicht allerdings nicht aus, um toxinbildende Sporenbildner zu inaktivieren.

-Chemische Verfahren

Chemische Verfahren werden am häufigsten zu Desinfektionszwecken eingesetzt. Chemischen Desinfektionsmittel unterscheidet man nach ihren Aggregatzuständen in flüssige, feste (jedoch löslich oder emulgierbar), gasförmige Präparate und Aerosole (WALLHÄUSER, 1988). Die Wahl des angewendeten Verfahrens wird von der Art und Eigenschaft des Wirkstoffes und dem Anwendungszweck bestimmt (SCHLIESSER, 1981).

Als Begründer der chemischen Desinfektion gilt I. SEMMELWEIS (1818-1865). Er ordnete 1847 in der Wiener Gebärklinik die Händedesinfektion mit einer Chlorkalklösung an und konnte somit das Kindbettfieber eindämmen. Einen weiteren entscheidenden Fortschritt in der Entwicklung der Desinfektion brachte J.LISTER (1867). Er wendete in Karbolsäure getränkte Verbände zur Wunddesinfektion an. Die mikrobizide Wirksamkeit der Karbolsäure geht jedoch auf die Arbeiten von LEMAIRE aus dem Jahre 1861 zurück. Aus diesen "antiseptischen" Anfängen entwickelte sich in den folgenden Jahrzehnten ein neues „Hygienebewusstsein“, welches das Ziel verfolgte, Keime von vornherein fernzuhalten und nicht nur vorhandene Keime zu bekämpfen. So schrieb bereits in dieser Zeit G. NEUBER (1886) die ersten grundlegenden Gedanken zur Hygiene in seinen „aseptischen Grundsätzen für den Klinikablauf und für die Operationsvorbereitungen des Personals und der Kranken“ (BORNEFF, 1971).

In der Tierhaltung finden bei der Flächendesinfektion vor allem *flüssige* Desinfektionsmittel Anwendung. Bei ihrer Herstellung ist die Wasserlöslichkeit ein begrenzender Faktor. Die flüssigen Zubereitungen werden durch Verspritzen, Versprühen mit und ohne Druck oder durch Wischen auf Flächen ausgebracht, wobei die Tröpfchengröße hierbei einen entscheidenden Faktor darstellt. Geringere Tröpfchengrößen bewirken eine Oberflächenvergrößerung der gelösten Wirkstoffe und ermöglichen hierdurch einen wesentlich geringeren Desinfektionsmittelverbrauch. Bei Anwendung von Sprühgeräten wird eine Tröpfchengröße von 25-250µm und bei Spritzgeräten eine Größe von 150-1000µm erreicht (SCHLIESSER, 1975).

Die Desinfektion mit *gasförmigen* Desinfektionsmitteln findet vor allem in geschlossenen Räumen, bei Instrumenten und Textilien Anwendung. Das Verfahren ist wenig materialschädigend, jedoch bedarf es eines hohen technischen Aufwandes. Außerdem sind nur wenige Substanzen hierfür geeignet wie z.B. Formaldehyd, Triäthylenglykol, Äthylenoxid. Die desinfizierende Wirkung der Gase wird durch Faktoren wie Konzentration, Temperatur, Luftfeuchte und Luftbewegung beeinflusst.

Die Desinfektion mit *Aerosolen* hat den Vorteil, dass auch Oberflächen an schwer zugänglichen Stellen und die Luft desinfiziert werden können. Die Tröpfchengröße der Aerosole liegt mit 0,5-10µm noch unter der Größe der Sprühgeräte und ermöglicht somit eine Verminderung des Desinfektionsmittelverbrauchs und damit eine höhere Wirtschaftlichkeit und eine geringere Belastung der Umwelt durch die Desinfektionsstoffe (WALLHÄUSER, 1984).

2.1.4. In der Veterinärmedizin verwendete Desinfektionswirkstoffe und ihre Wirkungsmechanismen

2.1.4.1. Wirkungsspektrum

Desinfektionsmittel können je nach ihrer Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Erregerarten als *viruzid*, *bakterizid*, *sporozid*, *tuberkulozid*, *fungizid* und *antiparasitär* eingestuft werden. Ein Desinfektionsmittel, das alle Mikroorganismen „ausreichend“ inaktiviert, ist bislang noch

nicht bekannt. Jeder Desinfektionsstoff weist eine gewisse “Lücke” in seinem Wirkungsspektrum auf (WALLHÄUSER, 1984).

In der Praxis werden häufig Mischpräparate aus verschiedenen Wirkstoffen verwendet, die ein erweitertes Wirkungsspektrum aufweisen. Außerdem existieren zwischen den Mikroorganismen erhebliche Unterschiede in der Tenazität gegenüber den unterschiedlichen Wirkstoffen.

Nach SCHLIESSER (1975) lassen sich die verschiedensten Erreger in ihrem Resistenzverhalten unterschiedlich einordnen.

- Niedrige Resistenz:
- Mykoplasmen
 - Viren mit Hülle
 - meiste gram⁺ Bakterien
 - meiste gram⁻ Bakterien
 - Pilze
 - einige gram⁺ Bakterien (z.B. Staphylokokken)
 - einige gram⁻ Bakterien (Pseudomonaden, Klebsiellen)
 - Viren ohne Hülle
 - säurefeste Bakterien
- Hohe Resistenz:
- Bakteriensporen.

Im folgenden wird vorwiegend auf die antivirale Desinfektion mit chemischen Substanzen eingegangen.

2.1.4.1.1. Viruzide Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln

Bei einer erfolgreichen Desinfektion verlieren Viren ihre Infektiosität. Es bestehen sogar innerhalb der selben Virusfamilie beträchtliche Unterschiede in der Tenazität gegenüber Desinfektionsmitteln (VANDEN BOSSCHE und STRAUCH, 1991).

Die Desinfektion von behüllten Viren, deren Infektiosität an Hüllkomponenten gebunden ist, wird meist durch die Einwirkung von lipidlösenden, oberflächenaktiven Stoffen oder durch freie Fettsäuren erreicht (LINTON et al., 1987 und SANDS et al., 1979 und

SPRINGTHORPE et al., 1990). Jedoch nicht für alle behüllten Viren scheint die Hülle essentiell für die Infektiosität zu sein (WITTMANN, 1967). Im Gegensatz hierzu sind die sogenannten „nackten“, hüllenlosen Viren schwer desinfizierbar. Zu ihrer Inaktivierung sind in der Regel eiweißdenaturierende Substanzen erforderlich (SCHLIESSER und WEBER, 1977). Für eine entgültige Virusinaktivierung muss laut WITTMANN (1967) die Nukleinsäure irreversibel geschädigt werden.

2.1.4.2. Für die Veterinärmedizin bedeutsame Desinfektionsmittel und bekannte Wirkungsmechanismen

Nach HAHN (1981) ist über die eigentlichen Vorgänge bei der Einwirkung von Desinfektionsmitteln auf Mikroorganismen wenig bekannt. Die Entwicklung von Desinfektionsmitteln basiert demnach zum großen Teil auf empirischen Erfahrungen.

Nachfolgend werden zur Information die für die Desinfektion im veterinärmedizinischen Bereich wichtigsten Desinfektionsmittelwirkstoffe verschiedener Stoffklassen aufgeführt (EGGENSPERGER, 1973; SCHLIESSER, 1974, 1975; TRAUTWEIN u. KRÜGER, 1977; SCHLIESSER, 1981; EDELMEYER, 1982; ARNDT, 1983; WELLINGER, 1983; WALLHÄUSER, 1984; JEFFREY, 1995).

2.1.4.2.1. ALDEHYDE

Die Stoffgruppe der Aldehyde zeichnet sich durch eine Carbonylgruppe aus. Ca. 30% der in der Veterinärmedizin eingesetzten Desinfektionsmittel enthalten Aldehyde. Das Formaldehyd wird als eines der „klassischen“ Desinfektionsmittel bezeichnet. Neben dem Formaldehyd werden noch Glutardialdehyd, Glyoxaldehyd und Succindialdehyd angewendet.

Formaldehyd (CH_2O) ist ein farbloses, stechend riechendes, entzündbares Gas, das in Wasser eine hohe Löslichkeit besitzt. In Wasser gelöstes Formaldehyd wird als Formalin bezeichnet und ist, methanolstabilisiert, nach DAB 10 mit einem Gehalt von 35% Formaldehyd im Handel erhältlich. Der pH-Wert für Formaldehyd muss zur Erzielung einer optimalen Desinfektionswirkung 3-10 betragen und der des Formalins 2,8-4. Formaldehyd neigt zur Polymerisation, was durch die Anwesenheit von Wasser, Säuren und Alkalien begünstigt wird. In der Luft wird Formaldehyd langsam zur Ameisensäure oxidiert. Die Wirkung des

Formaldehyd wird durch Ammoniak, Alkalien, H_2O_2 , Jod, Kaliumpermanganat, Eisen und Schwermetallen gehemmt, da die Aldehydgruppe mit Aminogruppen reagiert.

Angewendet wird Formaldehyd vor allem als Flächendesinfektionsmittel und bei der Gasdesinfektion in geschlossenen Räumen.

Formaldehyd ist jedoch bei oraler oder aerogener Aufnahme giftig und führt bei Hautkontakt zu Reizungen (WALLHÄUSER, 1988). Es wird im menschlichen Körper metabolisiert, zu Ameisensäure oxidiert und ausgeschieden. Die Inhalation von hohen Formalinkonzentrationen führt zu Nekrosen der Schleimhäute, zu Atemnot durch Kehlkopfkrämpfe und unter Umständen zu einem Lungenödem. Zur Neutralisation außerhalb des Körpers wird Ammoniak verwendet, als Antidot nach Verschlucken werden Aktivkohle und Harnstofflösungen eingesetzt. Nach der Gefahrenstoffverordnung ist Formaldehyd als „giftig“ zu kennzeichnen.

Glutardialdehyd ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$) ist eine ölige Flüssigkeit, süßlich und stechend riechend und mit Wasser und Alkohol in jedem Verhältnis mischbar. Es ist im Handel als 25%ige Lösung, ethanolstabilisiert, erhältlich. Der wirksame pH-Bereich des Glutaraldehyds liegt bei pH 5. Am besten bakterizid wirkt es bei pH 7,5- 8,5. Glutaraldehyd wird durch Ammoniak und primäre Amine inaktiviert.

Glutaraldehyd wird hauptsächlich zur Desinfektion von empfindlichen Geräten wie z.B. Endoskopen eingesetzt. Glyoxaldehyd, Glycidaldehyd und Succindialdehyd werden ebenfalls verwendet. Sie zeigen jedoch eine deutlich geringere Wirksamkeit.

Die Aldehyde besitzen gute bakterizide, tuberkulozide, viruzide und fungizide Wirkung. Bei Temperaturen von über 50°C wirken sie auch sporozid.

Nach KIRCHHOFF (1974) beruht die Wirkung der Aldehyde auf einer Reaktion mit den Aminogruppen in den Eiweißmolekülen. Zunächst kommt es zu einer Hydratisierung des Formaldehyds und danach zu einer Methylenbrückenbindung zwischen verschiedenen Aminogruppen, die ihre irreversible Ausfällung zur Folge haben. Daher kann die Wirkung von Aldehyden durch Zusatz von Aminosäuren oder löslichen Aminen gehemmt werden.

Formaldehyd wirkt nach MOLDENHAUER (1984) in sehr geringen Konzentrationen nur, wenn entsprechend lange Reaktionszeiten möglich sind. Auch von SPICHER (1979) wird Formaldehyd als ein langsam wirkendes Mittel bezeichnet. Durch Untersuchungen mit

Polioviren haben SPORKENBACHER-HÖFLER, WIEGERS und DERNICK (1983) weiterhin nachgewiesen, dass Formaldehyd auch zu Veränderungen an der Nukleinsäure führt, was trotz völlig intakter Morphologie der Viruspartikel eine vollständige Inaktivierung zur Folge haben kann.

2.1.4.2.2. ALKALIEN

Die Hydroxylgruppen (OH^- Ionen) sind der wirksame Teil der Alkalien. Zu dieser Stoffklasse gehören unter anderem Natronlauge, Kalilauge und Kalkmilch.

Natronlauge (NaOH) ist in Wasser gelöstes, farb- und geruchloses Natriumhydroxid. Der optimale Wirkungsbereich zur Desinfektion liegt bei pH 11.

NaOH wird im Veterinärbereich häufig zur Grob- bzw. Flächendesinfektion eingesetzt. Bei Seuchenfällen oder Seuchenverdacht wird sie als 1-2%ige Lösung verwendet.

NaOH führt zu Verätzungen an der Haut und der Schleimhaut. Bei der Verwendung von NaOH (> 5%) muss das Gefahrensymbol „ätzend“ angegeben werden.

Kalilauge (KOH) ist in Wasser gut löslich. Die optimale Desinfektionswirkung liegt bei einem pH-Wert von 11.

Kalk ist eines der ältesten Desinfektionsmittel. Die aus frisch gelöschtem Kalk ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) hergestellte Kalkmilch (Mischverhältnis: 1Teil gelöschter Kalk : 3Teile Wasser bzw. 1:20) wirkt lediglich keimvermindernd.

Angewendet werden Natronlauge und Kalilauge (KOH) als 2% - 4%ige wässrige Lösung .

Alkalien zeigen eine viruzide, bakterizide und fungizide Wirkung.

Natronlauge wirkt durch hydrolytische Spaltung von Säureamiden (Proteindenaturierung), die durch die OH^- Ionen bedingt wird. Da sie das Vermögen haben, Eiweiße und Fette zu lösen, besitzen sie eine gute Tiefenwirkung. Wegen dieser Eigenschaft werden Alkalien auch häufig anderen Desinfektionsstoffen zugesetzt. So kann zum Beispiel durch den Zusatz von Kalkmilch die desinfizierende Wirkung von Natronlauge erhöht werden.

2.1.4.2.3. ALKOHOLE

Alkohole wie Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) und Isopropanol ($((\text{CH}_3)_2\text{-CHOH})$) sind klare, farblose Flüssigkeiten. Sie sind in Wasser löslich und ihr optimaler Wirkungsbereich liegt im sauren Milieu. Ethanol ist flüchtig, absorbiert Wasser und kann durch nichtionische Detergentien inaktiviert werden.

Alkohole werden in der Medizin weitverbreitet zur Antiseptik eingesetzt, da sie schnell trocknen und hautverträglich sind. Daneben finden sie zur Raumluftdesinfektion in Dampfform oder als Aerosol Verwendung.

Alkohole haben die Eigenschaft schnell in die Mikroorganismen einzudringen (STEUER; LUTZ-DETTINGER, 1990). Sie sind die am raschesten mikrobizid wirkenden Verbindungen. Im Vergleich zu anderen Wirkstoffen werden jedoch erheblich höhere Konzentrationen benötigt. Sie wirken nicht sporozid.

Die mikrobizide Wirkung der Alkohole nimmt mit dem Molekulargewicht und der Kettenlänge zu, wobei das Maximum bei 5-8 C- Atomen liegt (z.B. Benzylalkohol, Hexylalkohol).

Die behüllten Viren werden relativ leicht durch Alkohole inaktiviert, da sie die Lipidhülle schnell auflösen und somit das Penetrationsvermögen in die Wirtszelle verhindern. Zur Inaktivierung hydrophiler und unbehüllter Viren müssen kurzkettige Alkohole eingesetzt werden.

So wirkt z.B. Isopropanol bei neutralem pH nicht gegen Enteroviren; durch Alkalisieren kann die Wirkung gegen Viren erheblich verstärkt werden. 80%iger Alkohol mit 0,01%iger NaOH ist z.B. ein gut wirkendes Mittel für die Hände- und Oberflächendesinfektion.

2.1.4.2.4. ORGANISCHE SÄUREN

Der wirksame Bestandteil der organischen Säuren ist die Carboxylgruppe (COOH- Gruppe). Zu den organischen Säuren gehören unter anderem die Ameisen-, Essig- und Propionsäure. Sie sind Vertreter der aliphatischen Monocarbonsäuren, welche eine Carboxylgruppe besitzen, die in wässriger Lösung in Protonen und negativ geladene Säure-Anionen dissoziieren.

Ameisen- (HCOOH), Essig- (CH_3COOH) und Propionsäure ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$) sind farblose, stechend riechende Flüssigkeiten, die mit Wasser und Ethanol in jedem Verhältnis mischbar sind. Ihr Wirkoptimum liegt bei ca. pH 3-6.

Die Ameisensäure ist toxischer und wirkt stärker lokal reizend als die anderen aliphatischen Säuren. Konzentrierte Ameisensäure kann zu Verätzungen der Haut führen, verdünnte Lösungen (ca. 1%ig) dienen der Anregung der Hautdurchblutung. Die Dämpfe reizen die Schleimhäute der Atemwege und der Augen. Oral aufgenommen kommt es zu Verätzungen, als Antidot dient Natriumbicarbonat und verdünnte Natronlauge. Die Ameisensäure gilt als „starkes Gift“ und „wassergefährdender Stoff“.

Die Essigsäure führt ab einer Konzentration von >5% zu Schleimhautreizungen und zu lokalen Schäden an den Schneidezähnen nach Inhalation.

Die Propionsäure ist an vielen Stoffwechselvorgängen der Pflanzen und Tiere beteiligt und somit in natürliche biologische Stoffumwandlungsprozesse integriert. Sie ist wie auch die Essigsäure biologisch abbaubar und weist keine ökologisch negativen Effekte aus.

Nach BÖHM (1987) wirken organische Säuren sehr gut gegen Bakterien und behüllte Viren und sind außerdem gut wirksam gegen Pilze und unbehüllte Viren. Eine antiparasitäre Wirkung konnte nicht nachgewiesen werden (STELLMACHER, 1971).

Da organische Säuren schwer dissoziieren, wirken sie als Gesamtmolekül, d.h. sie zerstören die Innenstruktur der Zelle durch Hydrolyse, Wasserentzug und Oxidationsvorgänge (MEHLHORN, 1979).

WALLHÄUSER (1988) unterscheidet jedoch zwischen der reinen Säurewirkung durch Absenken des pH-Wertes und der ausschließlichen Wirkung des undissoziierten Säureanteils. Dieser kann in die Mikroorganismenzelle eindringen und dort wichtige Stoffwechselfunktionen, in der Regel durch Hemmung der Enzymsysteme, unterbrechen. Der Anteil an undissoziierter Säure sinkt bei steigendem pH-Wert.

2.1.4.2.5. OXIDATIONSMITTEL

In diese Stoffgruppe gehören Halogene und deren Derivate, Persäuren, Peroxide und Ozon. Sie zeichnet sich durch starke oxidative Eigenschaften aus.

- Halogene und deren Derivate:

Natriumhypochloritlösungen (NaOCl) sind die bekanntesten Halogene. Sie sind gelblich gefärbt und haben einen charakteristischen Geruch nach Chlor. Bei der Lösung in Wasser entsteht freie unterchlorige Säure, die bei einem pH-Wert von 12 die größte Stabilität aufweist. Sie besitzt ein breites Wirkungsspektrum. Gegenüber anderen Desinfektionsstoffen haben die Natriumhypochloritlösungen den Vorteil, dass sie eine geringe Toxizität in den Gebrauchskonzentrationen aufweisen. Außerdem sind sie sehr billig und einfach anzuwenden. Konzentrierte Lösungen zeigen eine korrosive Wirkung auf Metall und unter Umständen können sie Hautirritationen (Rötung, Jucken etc.) hervorrufen.

Die Stabilität der Hypochloritlösungen ist abhängig von ihrer Konzentration. Hochprozentige Lösungen verlieren im gleichen Zeitraum mehr von ihrer Aktivität als schwache Konzentrationen. So verliert z.B. eine 10%ige Lösung bei Zimmertemperatur und dunkler Aufbewahrung 5% ihrer Wirksamkeit innerhalb von sechs Monaten. In den letzten Jahren wurde die Stabilität der Hypochlorite so weit verbessert, dass eine 5%ige Lösung nach neun monatiger Lagerung noch die Wirksamkeit einer 4%igen Lösung aufweist.

Ähnliche Eigenschaften wie das Natriumhypochlorit hat das Kaliumhypochlorit (KOCl). Beide sind in kristalliner Form instabil; Lithiumhypochlorit (LiOCl) und Calciumhypochlorit (Ca(OCl)_2) hingegen sind in fester Form stabil und werden daher als Pulver verwendet. Chloramin T ($\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNNaO}_2\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) setzt 36% aktives Chlor und 6% aktiven Sauerstoff frei, Trichloroisocyanursäure 90% aktives Chlor und Dichloroisocyanursäure 55-60% aktives Chlor. Es handelt sich um weiße, kristalline Pulver mit starkem Chlorgeruch. Sie sind in Wasser löslich und ihr optimaler Wirkungsbereich liegt für Chloramin T im sauren Bereich und für Trichloroisocyanursäure und Dichloroisocyanursäure bei einem pH von 6-10.

Neben den Hypochloriten wird seit nahezu 150 Jahren Jod (J_2) medizinisch genutzt. Wegen der bei der Anwendung auftretenden Verfärbungen wird es jedoch nur als Haut- und Wunddesinfektionsmittel eingesetzt. Als Flächendesinfektionsmittel besitzt es nur geringe

Bedeutung. Nicht gelöstes Jod ist spröde und zerbricht in grauviolette Plättchen oder kleine Kristalle mit metallischem Glanz, denen ein scharfer, reizender Geruch entströmt. Es ist in Wasser, Ethanol und Glycerol löslich, jedoch bereits bei Raumtemperatur flüchtig. Im sauren pH- Bereich wirkt es am stärksten.

Heute werden vermehrt Jodophore (Verbindungen von Jod mit oberflächenaktiven Substanzen) eingesetzt. Am weitesten verbreitet ist der Polyvinyl- Pyrrolidon- Jodkomplex (PVP- Jod). PVP- Jod $((C_6H_9NO)_n \cdot x J)$ ist ein braunes, rieselfähiges Pulver mit einem wirksamen Jodgehalt von 9-12%. Es ist in Wasser und Ethanol löslich und erreicht die beste Wirkung im Bereich von pH 2,5-4.

Die keimtötende Wirkung der Halogene beruht einmal auf der oxidierenden Wirkung ihrer wässrigen Lösung, wodurch z.B. die Sulfhydrylgruppen der Enzyme zu Disulfiden oxidiert werden und zum anderen auf der Halogenisierung von Aminogruppen. Diese Reaktionen finden mit Proteinen aller Art statt, wodurch die starke Reduktion der Wirkung in Gegenwart von Serum erklärt werden kann.

- Persäuren, Peroxide und Ozon:

Ozon (O_3), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Peressigsäure ($C_2H_4O_3$) sowie andere organische Persäuren setzen bei ihrem Zerfall elementaren Sauerstoff frei, der mit fast allen Molekülen der Mikroorganismen rasche und intensive Oxidationsreaktionen eingeht, die zu irreversiblen Schäden am Mikroorganismus führen.

Das hochtoxische Ozon ist ein farbloses, charakteristisch riechendes Gas, das sich in Wasser besser löst als Sauerstoff. Hochkonzentrierte Ozon- Luftgemische sind explosiv. Der optimale Wirkungsbereich liegt bei pH 2. Ozon wird meist für die Wasseraufbereitung eingesetzt, da es sich im Wasser sehr rasch zersetzt und dann nicht mehr toxisch ist. Hierbei kann es durch zahlreiche organische und anorganische Verbindungen zu einem Verlust des „frei verfügbaren“ Ozons kommen. Ozon besitzt ein breites Wirkungsspektrum, das bei ausreichend hoher Konzentration ($5\mu g/ml$) sogar sporozid wirksam ist.

Wasserstoffperoxid ist eine farblose, fast geruchlose Flüssigkeit. In Wasser gelöst, besitzt es sein Wirkungsoptimum im schwach sauren Bereich. Da Wasserstoffperoxid bei Lagerung sehr instabil ist, muss es durch geeignete Zusätze wie Schwefel- oder Phosphorsäure stabilisiert

werden. In Gegenwart von Metallen, Staub oder in alkalischen Lösungen und in Gegenwart von Katalase zersetzt sich H_2O_2 . Es verfügt über ein breites mikrobizides Wirkungsspektrum, jedoch sind dafür relativ hohe Konzentrationen (3-6%ig) erforderlich (TURNER, 1977). In Konzentrationen >10% kann H_2O_2 zu Schleimhautreizungen führen.

Wasserstoffperoxid wird zur Desinfektion und Desodorierung von infizierten Wunden als 0,5%ige Lösung verwendet. Weiterhin findet es Anwendung bei der Desinfektion von Wasser, Kunststoffimplantaten und medizinischen Plastikgegenständen.

Peressigsäure (PES) ist in 100 %iger Form eine hochexplosive, farblose, beißend riechende Flüssigkeit, die in Wasser, niederen Alkoholen, Ketonen und Estern löslich ist. Lösungen von <10% gelten als nicht explosiv, sie weisen jedoch nur eine geringe Haltbarkeit auf. Die PES ist ein chemisches Gleichgewichtssystem der Komponenten Essigsäure, Wasserstoffperoxid, Wasser und Peressigsäure (JENTSCH, 1978). Bei Lagerung bei Zimmertemperatur müssen die Desinfektionslösungen wöchentlich, bei Lagerung bei 4°C monatlich frisch hergestellt werden (FLEMMING, 1984). Der optimale Wirkungsbereich der Peressigsäure liegt bei einem pH von 2,5-4.

Der Wirkungsmechanismus der O_2 - abspaltenden Mittel beruht auf der Oxidation von Strukturproteinen der Zelle. Die SH- Gruppen (Sulphydrylgruppen) werden oxydiert und es entstehen Disulfide. SPORKENBACHER-HÖFLER, WIEGERS und DERNICK (1983) konnten außerdem zeigen, dass die PES in die Struktur der Nukleinsäure eingreift. Bei Untersuchungen am Poliovirus wurde bewiesen, dass PES das Viruskapsid zerstört und die Nukleinsäure fragmentiert. Die Autoren sprechen von einer vollständigen, durch die PES induzierten Virusinaktivierung.

Auch gegenüber Bakterien zeigt sich die PES nach FLEMMING (1984) als gut wirksam, da sie die Membran des endoplasmatischen Retikulums und damit die Zellatmung zerstört. Die bakteriellen Enzymsysteme werden irreversibel geschädigt, wobei die PES sowohl die Peroxidase als auch die Katalase inaktiviert. Hingegen Wasserstoffperoxid inaktiviert nur die Katalase.

Insgesamt wird die PES als ein Desinfektionsmittel mit einem ungewöhnlich breiten Wirkspektrum und einer besonders guten Wirksamkeit gegen Mikroorganismen eingestuft. Es kann unbedenklich auch in Anwesenheit von Reinigungsmitteln wie Schmierseife und anionischen Detergentien angewendet werden (SPRÖSSIG u. MITARB., 1968).

Daneben wird PES als ein sehr ökonomisches Desinfektionsmittel angesehen, da nur geringe Anwendungskonzentrationen (0,001%- 2%ig) notwendig sind und der Preis relativ niedrig ist (SPRÖSSIG, 1979).

Von Nachteil ist dagegen, dass der reinen PES in Bezug auf Benetzbarkeit und Penetrationsvermögen Grenzen gesetzt sind (JENTSCH, 1978).

2.1.4.2.6. PHENOL und PHENOLDERIVATE

Diese Stoffgruppe besitzt als chemische Grundstruktur einen Benzolring. Zu ihr gehören die Phenole, die halogenierten Phenole und die Kresole.

Phenol (C_6H_5OH) ist eines der ältesten Desinfektionsmittel und wurde schon 1865 von LISTER zur Antisepsis verwendet. Es handelt sich um eine farblose, kristalline Substanz, die sehr charakteristisch riecht und auf der Haut ätzende Eigenschaften aufweist. Die orale Einnahme kann neben Nekrosen in Mund- und Rachenraum zu schweren Intoxikationen führen. Die durchschnittliche orale Letaldosis wird mit 15g angegeben.

Phenole sind in Alkohol, Aceton und in Glycerin löslich. Das Wirkungsoptimum liegt im sauren pH- Bereich.

Die Aktivität der Phenole kann durch Alkoholzusatz und durch Halogenierung gesteigert werden, wobei die Anzahl der Halogensubstituenten und ihre Stellung ausschlaggebend sind. Mehrfachhalogenierte Verbindungen sind wirksamer und ihre Aktivität steigt mit zunehmendem Atomgewicht des Halogens. Bei Substitution in der para- Stellung ist die desinfizierende Wirksamkeit ausgeprägter als in der ortho- Stellung. Aliphatische oder aromatische Gruppen als Substituenten führen zu einer weiteren Wirksamkeitssteigerung, wobei bei gleicher C- Atomzahl die geradkettigen Verbindungen am wirksamsten sind (KLARMANN, 1950). Ein gebräuchlicher Vertreter der Phenolderivate ist das Kresol (C_7H_8O , Methylphenol), das als o- Kresol, m- Kresol oder p- Kresol vorliegen kann.

Phenole und Phenolderivate wirken als sogenannte Protoplasmagifte, die vorwiegend mit Proteinen reagieren. Es kommt zur Enzyminaktivierung durch Reaktion der Hydroxylgruppen der Phenole mit den Aminogruppen der Proteine. Halogenierte Phenole und Kresole besitzen nach SCHLIESSER eine bakterizide (nicht sporozide), fungizide und beschränkt viruzide Wirkung.

Phenole spielen jedoch als Desinfektionsmittel heutzutage kaum noch eine Rolle. Kresole werden zum Teil zur Händedesinfektion und zur Scheuerdesinfektion (Grob- und Flächendesinfektion) verwendet.

2.1.4.2.7. OBERFLÄCHENAKTIVE STOFFE

Diese Stoffgruppe kann unterteilt werden in anionische Netzmittel mit waschaktiver Wirkung (Seifen, Detergentien) sowie kationische (quarternäre Verbindungen) und amphotere Netzmittel (Amphotenside). Die Gruppe verdankt ihren Namen der Fähigkeit zwischen hydrophoben und hydrophilen Oberflächen zu vermitteln.

Anionenaktive Netzmittel sind keine Desinfektionsmittel, sondern sind zu den Reinigungsmitteln zu zählen. Meist handelt es sich um aliphatische Kohlenwasserstoffe mit einer randständigen COOH-Gruppe. Im sauren Bereich erreichen sie bei pH 1,9-2,2 ihre beste mikrobizide Wirksamkeit. Die Anwesenheit von organischen Materialien (Milch, Blut, etc.) kann ihre Wirkung beeinträchtigen. Der Wirkmechanismus ist noch nicht endgültig geklärt, jedoch wird angenommen, dass es zu einer Inaktivierung bestimmter Enzymsysteme und somit zu einer Störung der Permeabilität der Zellmembran kommt.

Anionische Detergentien werden in Mischungen mit organischen oder anorganischen Säuren oder Phosphorsäureestern, oft noch in Verbindung mit nichtionischen Tensiden in der Milchwirtschaft, der Getränke- und Lebensmittelindustrie als sogenannte „Sanitizer“ angewendet.

Bei den kationischen Verbindungen zeichnen sich neben den höhermolekularen Aminen besonders die quarternären Verbindungen (QUATS) durch ihre antimikrobielle Wirksamkeit aus. Die Struktur der Quats ist entscheidend für ihre Wirksamkeit. Ihre desinfizierende Wirkung nimmt im alkalischen Bereich zu und im sauren Bereich ab (STEUER und LUTZ-DETTINGER, 1990). Benzalkonium und Alkyldimethylenbenzylammoniumchlorid gehören zu den wirksamsten Vertretern dieser Stoffklasse. Sie besitzen bakterizide, fungizide und eine begrenzt viruzide (nur behüllte Viren) Wirksamkeit. So ist das Benzalkoniumchlorid gut wirksam gegen lipophile Viren, jedoch weitaus weniger wirksam gegen hydrophile Viren wie z.B. Enteroviren.

Ihr Wirkungsmechanismus besteht in einer Zerstörung von Lipidmembranen und der Inaktivierung empfindlicher Enzyme, die auf einer teilweise reversiblen Komplexbildung mit diesen Proteinen beruht.

Quaternäre Ammoniumverbindungen werden als Zusatzwirkstoff bei Haut- und Händedesinfektionsmitteln verwendet. Sie werden auch in der pharmazeutischen, kosmetischen und in der Lebensmittelindustrie zur Desinfektion von Flächen in Produktionsräumen im Rahmen von „Sanitizing“-Programmen eingesetzt.

Amphotere Verbindungen, die seit Jahrzehnten als „Tego-Tenside“ im Handel sind, bilden als Aminosäuren im Wasser Kationen, Anionen und sogenannte „Zwitterionen“ (positiv und negativ geladen). „Tego“ ist eine gelbliche bis honiggelbe Flüssigkeit, die mit Wasser mischbar ist. Der wirksamste Desinfektionsbereich liegt zwischen pH 5 und 9. Die desinfizierende Wirksamkeit der Amphotenside ist unter Proteinbelastung und in Anwesenheit von anionischen und nichtionischen Tensiden herabgesetzt. Insgesamt sind die grenzflächenaktiven Verbindungen als Desinfektionsmittel mit einer begrenzten und vom Milieu abhängigen mikrobiziden Wirksamkeit zu charakterisieren, die jedoch wenig toxisch, geruchlos und sehr wirtschaftlich in der Anwendung sind (WILLINGER, THIEMANN, 1972).

2.1.4.2.8 SCHWERMETALLE

Zu dieser Stoffgruppe zählen unter anderem anorganische und organische Quecksilber-Verbindungen (z.B. Mercurichlorid: HgCl_2) und organische Zinnverbindungen (Organozinnverbindungen). Sie wirken nach SCHLIESSER (1981) bakterizid und fungizid. Früher spielten sie in der Therapie und bei der Desinfektion eine führende Rolle, heute sind sie aber wegen ihrer hohen Toxizität und ihrer Reaktionsfreudigkeit mit Eiweißen weitgehend von anderen Mitteln verdrängt worden. Die Vorteile von organischen Zinnverbindungen liegen nach SCHLIESSER (1981) in ihrer guten Haut- bzw. Materialverträglichkeit. Gegen den Gebrauch sprechen nach WEGNER (1977) die Unwirtschaftlichkeit und besonders die hohe Toxizität der Schwermetalle.

Sie werden daher heutzutage fast nur noch als Konservierungsmittel für Pharmazeutika verwendet.

Ihr Wirkungsmechanismus besteht nach HAHN (1981) in einer Reaktion mit den Sulfhydrylgruppen entsprechender Aminosäuren unter Ausbildung von Mercaptit. So kommt es zum Aktivitätsverlust von Ureasen, Oxidasen und Proteasen und damit zu einer Wachstumshemmung (Bakteriostase). Diese Reaktion ist jedoch reversibel.

2.1.4.2.9. BIGUANIDE UND POLYMERISIERTE BIGUANIDE

Hierzu zählen Alexidin, Chlorhexidin und polymerisierte Biguanide.

Chlorhexidin ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$) ist ein weißes, kristallines, geruchloses Pulver, das in Wasser unlöslich ist. Als Chlorhexidingluconat hingegen löst es sich vollständig in Wasser und wird als Salz häufig eingesetzt. Die Desinfektionskraft hat ihr Wirkoptimum bei pH 5-8. Es ist unverträglich mit anionischen Detergentien und anorganischen Anionenverbindungen und verliert seine desinfizierende Wirkung bei Temperaturen über 70°C. In niedrigen Konzentrationen führt Chlorhexidingluconat zu einer Bakteriose und erst bei 500 bis 2000fach höhere Konzentrationen ist von einem bakteriziden Effekt auszugehen. Obwohl es ein breites antibakterielles Wirkungsspektrum aufweist, ist die viruzide Wirksamkeit begrenzt und die Wirkung gegenüber Sporen und Mykobakterien als nicht ausreichend zu bezeichnen.

Von Seiten des Wirkungsmechanismus geht man davon aus, dass der Wirkstoff an der Zelloberfläche adsorbiert und in Folge die Funktion der Zytoplasmamembran schädigt. Anwendung findet Chlorhexidingluconat in wässriger oder alkoholischer Lösung zur präoperativen Hautdesinfektion und die Alexidine werden als Mittel zur Munddesinfektion eingesetzt.

Die polymerisierten Biguanide werden als Reinsubstanzen nicht verwendet, sondern lediglich in Kombinationspräparaten mit Quaternären Amoniumverbindungen oder Detergentien. Diese Stoffgruppe darf nicht mit Alkalien eingesetzt werden, da diese die Wirkung der Biguanide hemmen.

2.1.4.2.10. DESINFEKTIONSMITTELMISCHUNGEN

Ein großer Anteil kommerziell erhältlicher Desinfektionsmittel besteht aus mehreren Wirkstoffen. Dies kann zu einer Steigerung des Wirkungsspektrums und der mikrobiziden Wirksamkeit führen und gleichzeitig durch eine Reduktion der einzelnen Wirkstoffe zu einer Minderung der Toxizität beitragen.

ALDEHYDE werden häufig unter Ausnutzung eines synergistischen Effektes mit anderen Aldehyden (Glutardialdehyd, Glyoxal), Alkoholen, quarternären Ammoniumbasen und Amphotensiden gemischt. Dies führt zu einer Erhöhung der Wirksamkeit und des Wirkungsspektrums. Weiterhin ist bekannt, dass durch Alkoholzusatz die Wirksamkeit der Aldehyde in der Gasphase gesteigert werden kann. Daneben wurde berichtet, dass die desinfizierende Wirksamkeit, insbesondere die des Formaldehyds, durch Seifen und Emulgatoren gesteigert werden kann.

Den ALKOHOLEN, die in der Händedesinfektion eingesetzt werden, sind häufig quarternäre Ammoniumbasen zugesetzt, um der schnellen Verdunstung entgegenzuwirken und so eine „Nachwirkung“ zu erreichen. Bei den Gerätedesinfektionsmitteln auf Basis von Alkoholen findet sich häufig ein Zusatz von 0,5-1%igem Jod (J_2).

Die HALOGENE besitzen wie oben angegeben eine mangelnde Oberflächenbenetzbarkeit. Daher gelangen sie meist mit Zusatzdetergentien wie Aminoxiden, Seifen, alkalischen Sulphonaten und Sulphaten in den Handel.

Bei der PES wurde gezeigt, dass der Zusatz von Alkoholen oder Tensiden ihre viruzide Wirksamkeit noch erhöht, wogegen durch den Zusatz von quarternären Ammoniumbasen die sporozide Wirksamkeit erhöht werden kann (SPRÖSSIG, 1989). Eine Lösung mit einem Gehalt von 0,2% PES und 33% Alkohol wurde als „universell wirksam“ bezeichnet (FLEMMING, 1984).

Wegen ihrer begrenzten mikrobiziden Wirkung werden QUARTERNÄRE AMMONIUMBASEN oft in Verbindung mit Chlorhexidinen oder polymerisierten Biguaniden zur Steigerung ihrer Wirksamkeit gegen gram⁻-Bakterien angewendet. Auch in

Verbindung mit Glutaraldehyden ist eine Steigerung ihrer Wirksamkeit zu erreichen. Zur Verbesserung der Oberflächenaktivität werden häufig anionische Detergentien zugesetzt.

2.1.5. Faktoren, die die chemische Desinfektion beeinflussen

Im wesentlichen wird der Desinfektionserfolg nach SCHLIESSER (1975) durch drei Größen bestimmt:

- die Art und Menge der Mikroorganismen,
- die Konzentration des Desinfektionsmittels und
- die Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels.

Darüber hinaus sind besonders unter Praxisbedingungen eine Reihe weiterer, möglicherweise negativer Einflussfaktoren, wie die organische Belastung des Milieus, der pH-Wert, die Temperatur, die Materialbeschaffenheit und die Feuchtigkeit zu berücksichtigen.

Bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln unter Laborbedingungen können aus Gründen der notwendigen Standardisierung solcher Prüfungen selten alle für den Einsatz in der Praxis relevanten Einflussgrößen berücksichtigt werden. Der Einfluss des pH- Wertes und der Temperatur auf die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus in Abhängigkeit von der Konzentration und Einwirkungszeit des Mittels kann mit wissenschaftlichen Methoden untersucht werden. Alle weiteren unter Praxisbedingungen anzutreffenden Faktoren lassen sich wegen ihrer Vielfältigkeit mit Anspruch auf eine allgemeine Aussage nur schwer untersuchen. In diesen Fällen stehen für die Prüfung von mikrobiziden Wirkstoffen Modelle zur Verfügung. Für die Nachahmung schwer desinfizierbarer Oberflächen setzt man z. B. Keimträger ein und als Ersatz für die Belastung des Milieus mit organischen Bestandteilen verwendet man eiweißreiche Lösungen (Eiweißbelastung).

Von Seiten der Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit erscheinen daher lediglich die Versuche zur Prüfung der Einflüsse pH- Wert, Temperatur und Eiweißbelastung als geeignet, die milieuabhängige Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln zu charakterisieren. Im folgenden werden diese Faktoren im Hinblick auf eine mögliche Berücksichtigung des Desinfektionserfolges bei der Anwendung in der Veterinärmedizin bedeutsamer Desinfektionsmittel näher charakterisiert.

Die in Tierställen vorkommenden organischen Substanzen wie z.B. Milch, Futter, Kot, Blut, Eiter etc. reduzieren schon in geringen Mengen die mikrobizide Wirkung vieler Desinfektionsmittel. Diese Stoffe können zum einen schützende Hüllen für den Mikroorganismus darstellen und zum anderen nicht mehr antimikrobiell wirksame Komplexe mit dem Desinfektionsmittel bilden (WILLINGER, 1972).

Von diesen organischen Belastungen, die im folgenden mit dem Begriff „Eiweißbelastung“ bezeichnet sind, beeinflussen die *Aldehyde* in ihrer Wirksamkeit kaum. Ebenso verhalten sich die *Alkalien*, wie z.B. die Natronlauge (PETZOLDT, 1977). Daneben weisen auch die *Phenolderivate* (SCHLIESSER, 1981a) und die *Amphotenside* (STEUER und LUTZ-DETTINGER, 1990) einen geringen Eiweißfehler auf, wogegen in anderen Untersuchungen eine erhebliche Reduktion der Wirksamkeit der Phenole durch organische Substanzen wie Milch, Serum, Blut, Öle und Seifen nachgewiesen wird (WALLHÄUSER, 1984).

Peressigsäure (PES) und *Peroxide* wiesen geringe Einbußen in ihrer Wirksamkeit durch Eiweißbelastung auf, die jedoch durch eine geringfügige Erhöhung des Wirkstoffanteils oder eine Verlängerung der Expositionszeit ausgleichbar sind (SPRÖSSIG, 1979 und FLEMMING, 1984). KRAUS (1983) hingegen wies einen ausgeprägten Eiweißfehler von PES und H_2O_2 in Gegenwart von Blut und Rinderserumalbumin nach. Ebenfalls deutliche Wirkungseinbußen unter Eiweißbelastung zeigen die *quarternären Ammoniumbasen* (STEUER und LUTZ-DETTINGER, 1990).

Bezüglich der Wirksamkeit von *organischen Säuren* unter Eiweißbelastung herrscht eine kontroverse Auffassung. Nach BÖHM (1987) soll es durch den Zusatz von Eiweiß zu Protonenwanderungen kommen und somit zu einer Abpufferung der Wirksamkeit. Andere Autoren hingegen beschreiben, dass die Wirksamkeit der organischen Säuren durch Eiweißbelastungen nicht vermindert wird (STELLMACHER, 1972 und LEIDIG, 1985). Deutliche Wirkungseinbußen zeigen die *Oxidationsmittel. Halogene und deren Derivate* reagieren mit jeder oxydierbaren Substanz und können daher durch organische bzw. anorganische Bestandteile des Milieus rasch „verbraucht“ werden (SPICHER, 1970). Weiterhin ist bekannt, dass in Gegenwart von Blut, Eiter, Serum oder anderen Eiweißstoffen eine starke Verringerung ihrer mikrobiziden Wirkung durch die Halogenzehrung eintritt (EDELMEYER, 1982).

Auch bei den *Alkoholen* muss man nach SCHLIESSER (1981a) mit einem großen Eiweißfehler rechnen.

Der pH- Wert ist nach WILLINGER (1972) von großer Bedeutung für die Aktivität von Desinfektionsmitteln, da jeder chemische Stoff in einem bestimmten pH- Bereich seine optimale Wirksamkeit entfaltet.

So beruht beispielsweise die Wirkung der *organischen Säuren*, neben der reinen Säurewirkung, auch auf dem undissoziierten Säureanteil, der mit steigendem pH-Wert absinkt, im Neutralbereich nahezu vollständig dissoziiert und damit nahezu unwirksam ist (WALLHÄUSER, 1988). Auch *PES* und H_2O_2 entfalten ihre optimale Wirkung im sauren pH-Bereich (pH von 2,5-4). Im alkalischen Bereich wird H_2O_2 rasch zersetzt (WALLHÄUSER, 1984).

Phenole und die Phenolderivate wirken am stärksten im sauren Bereich. Im alkalischen Milieu nimmt die Wirksamkeit ab, da die aktiven Hydroxylgruppen mit Alkalien unter Salzbildung reagieren und infolgedessen nicht mehr in der Lage sind, Aminogruppen der Mikroorganismen anzugreifen (SPICHER, 1970; EDELMEYER, 1982; WALLHÄUSER, 1984).

Auch die *Halogene und deren Derivate* haben ihr Wirkungsoptimum im sauren pH- Bereich. Bereits 1941 stellten RUDOLPH und LEVINE fest, dass Chlor in schwach sauren Bereichen rascher wirkt als im alkalischen Bereich. Nach SPICHER (1970) soll für die mikrobizide Wirksamkeit von Chlorklösungen der pH-Wert sogar entscheidender sein als die eingesetzte Chlormenge. Ähnlich wie bei dem Chlor liegt das Wirkoptimum für Jod auch im sauren Bereich; Jodophore wirken am besten bei pH 2,5 - 4,0 (WALLHÄUSER, 1984).

Der optimale pH- Bereich der *Alkohole* richtet sich nach der Anzahl seiner Kohlenstoffatome und reicht von pH 4 bis pH 7. Ebenso gibt es Unterschiede unter den *Aldehyden*. So ist das pH- Optimum für Formaldehyd bei 6 (WILLINGER, 1972), für Glutardialdehyd dagegen bei einem pH von 7,5 - 8,5, also im schwach alkalischen Milieu (WALLHÄUSER, 1984). Der optimale pH-Bereich für *amphotere Verbindungen* befindet sich zwischen pH 5 und 9, *quarternäre Ammoniumbasen* haben ihr Wirkungsoptimum im alkalischen Bereich. Bei einem pH < 3 zeigen diese Verbindungen keine Wirksamkeit mehr (STEUER und LUTZ-DETTINGER, 1990; WALLHÄUSER, 1984). Extrem alkalische Bereiche (pH>13) sind für eine optimale mikrobizide Wirkung der Alkalien erforderlich (STELLMACHER, SCHOLZ und PREISSLER, 1974).

Was den Einfluss der Umgebungstemperatur anbetrifft, ist seit langem gut bekannt, dass durch eine Erhöhung der Temperatur eine Steigerung der desinfizierenden Wirkung und durch eine Absenkung der Temperatur eine Abnahme der Wirkung eintritt (SCHLIESSER, 1981).

Auch WIEST (1978) konnte bei seinen Untersuchungen von verschiedenen Keimen und Desinfektionsmitteln zeigen, dass der Desinfektionserfolg wesentlich von der Temperatur beeinflusst wird. Die meisten der nachfolgend aufgeführten Untersuchungen gehen auf Versuche unter Verwendung von Bakterien oder Bakteriosporen als Testkeime zurück. Für den Bereich der Viruzidie liegen nur begrenzt Informationen vor.

Den geringsten Temperaturfehler weist die PES auf. Sie ist zwischen 37°C und -15°C mikrobizid wirksam und somit bei Minustemperaturen allen anderen Desinfektionsmitteln überlegen (THIEL 1977c). Auch andere Autoren konnten zeigen, dass niedrige Temperaturen die Wirksamkeit der PES nicht vermindert (STELLMACHER, SCHWEBS und SOMNITZ, 1973 und SCHLIESSER und WIEST, 1979). Bereits 1967 wiesen JONES, HOFFMANN und PHILLIPS in ihren Untersuchungen auch eine hervorragende sporozide Wirksamkeit geringer PES - Konzentrationen im Bereich von 0°C bis -30°C nach. Dagegen soll nach DIETZ und BÖHM (1980) ein deutliches Nachlassen der Wirksamkeit der PES bei tieferen Temperaturen eintreten. Auch Untersuchungen mit Wasserstoffperoxid bestätigen den Verlust an Wirksamkeit bei niedriger Temperatur. Bei einer Temperatur von 3°C sind erst deutlich höhere Konzentrationen mikrobizid wirksam im Vergleich zu den Untersuchungen bei 13°C und 23°C (KRAUS, 1983).

Auch bei den Phenolen sind kontroverse Ergebnisse zur temperaturabhängigen, mikrobiziden Wirksamkeit bekannt. Bei Untersuchungen von STELLMACHER, SCHWEBS und SOMNITZ (1973) sind die Phenole bis zu Temperaturen von -20°C voll mikrobizid wirksam. Andere Untersuchungen dagegen weisen auf einen deutlichen Wirksamkeitsverlust der Phenole mit fallender Temperatur hin, da bei Temperatursenkungen von 22°C auf 12°C zwei- bis dreimal und von 22°C auf 4°C sogar sechsmal längere Einwirkungszeiten zur Desinfektion notwendig sind (WIEST, 1978 und MONEV, 1972).

Bei den *Halogenen und deren Derivaten* sind die Angaben in der Literatur demgegenüber einheitlich. Die Wirksamkeitseinbußen durch niedrige Temperaturen sind bei den Halogenen im Vergleich zu anderen Desinfektionsmitteln relativ niedrig und besonders das Jod erweist sich als relativ temperaturstabil (WALLHÄUSER, 1984). Untersuchungen mit Chlorkalk und Chloramin belegen, dass es bei Temperaturen bis 0°C nur zu einer geringgradigen Verzögerung der Desinfektionswirkung kommt. 5%iges Chloramin und ab -15°C 5%iger

Chlorkalk wirken bereits ab -5°C nicht mehr mikrobizid (STELLMACHER, SCHWEBS und SOMNITZ, 1973). Bei Temperaturen bis zu -5°C verlieren Jodophore nur wenig von ihrer mikrobiziden Wirksamkeit (ASCHL, 1980).

Der Einfluss der Temperatur auf die Wirksamkeit der Alkalien wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Nach SYKES (1967) und THIEL (1977c) ist bei tiefen Temperaturen nicht mit einer Beeinträchtigung der mikrobiziden Aktivität von NaOH zu rechnen. Zum Teil war sogar eine höhere Effektivität nachweisbar. Bei fallenden Temperaturen kommt es dagegen zu einer eindeutigen Reduktion der mikrobiziden Eigenschaft von NaOH mit fallender Temperatur, was insgesamt auf das Vorliegen eines Temperaturfehlers bei NaOH hindeutet (SCHULER, 1972 und SCHLIESSER und WIEST, 1979).

Von den *Aldehyden* ist seit langem bekannt, dass sie ab Temperaturen unter 18°C an mikrobizider Aktivität verlieren (THIEL, 1977a). Temperaturen unter dem Gefrierpunkt (-10°C) führten sogar zu einem vollständigen Verlust der Effektivität (STELLMACHER, SCHWEBS und SOMNITZ, 1973). Daher sollte bei Anwendung dieser Stoffgruppe die Temperatur nicht unter 18°C liegen (STEUER und LUTZ-DETTINGER, 1990 und WALLHÄUSER, 1984).

Mit einem ähnlich hohen Wirkungsverlust wie bei den Aldehyden muss auch bei der Anwendung *organischer Säuren* bei tieferen Temperaturen nicht nur gegenüber Bakterien, sondern auch gegenüber Viren gerechnet werden (BÖHM, 1987 und HERBST et al., 1990).

Erkenntnisse über die mikrobizide Wirksamkeit von Amphotensiden und quarternären Verbindungen bei niedrigen Temperaturen liegen in der Literatur nicht vor. Es ist lediglich belegt, dass die mikrobizide Wirksamkeit bei Temperaturerhöhung ansteigt. Dies lässt sich aus Untersuchungen ableiten, in denen gezeigt wurde, dass bei einer Temperatur von 37°C deutlich geringere Desinfektionsmittelkonzentrationen erforderlich waren als bei 20°C (WALLHÄUSER, 1984 und SYKES, 1965).

Wie bereits oben angeführt sind unter Bedingungen der Praxis weitere Faktoren zu berücksichtigen, die den Erfolg der chemischen Desinfektion beeinflussen. Hierzu zählen die Luftfeuchtigkeit und Luftgeschwindigkeit in den Tierstallungen und die Art und Oberflächenbeschaffenheit der Baumaterialien. Entgegen den beschriebenen Faktoren pH-Wert, Temperatur und Eiweißbelastung lässt das Studium dieser weiteren Einflussfaktoren allgemeingültige Aussagen auf eine mögliche Wirkungsbeeinträchtigung chemischer

Desinfektionsmittel nur begrenzt zu. Prinzipiell können Versuche hierzu nur die Situation unter den jeweils gegebenen Versuchsbedingungen reflektieren.

Was die Luftfeuchtigkeit und die Luftgeschwindigkeit anbetrifft, wird davon ausgegangen, dass eine hohe Luftfeuchtigkeit die Diffusion in die Stallbauelemente und damit die Tiefenwirkung des Mittels verbessert sowie ein schnelles Abtrocknen verhindert. Nachteil einer hohen Luftgeschwindigkeit ist die rasche Verdunstung des Desinfektionsmittels und in Folge eine verkürzte Einwirkungszeit mit dem Erreger (STRAUCH et al., 1987).

Hinsichtlich der Oberflächenbeschaffenheit von Baumaterialien ist der beste Desinfektionserfolg auf glatten Materialien zu erzielen (WILLINGER, 1972). Raue Oberflächen können die Diffusion des Desinfektionsmittels bis zu dem Ort der Mikroorganismen erschweren und damit den Desinfektionserfolg beeinträchtigen. Unter Praxisbedingungen laufen jedoch vor allem an glatten Flächen in vertikaler Stellung die Desinfektionslösungen rasch ab, woraus eine Verkürzung der Einwirkzeit und damit ein unzureichender Desinfektionserfolg resultiert. Auf porösen, saugfähigen Oberflächen (unbehandeltes Holz, Wandputz, etc.) kann es bei ausreichender Benetzung zu einem gewissen Speichereffekt mit erwünschter Langzeitwirkung kommen (SCHLIESSER, 1975).

2.1.6. Verfahren zur Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel in Deutschland

Für die Humanmedizin, Veterinärmedizin und die Landwirtschaft wurden unabhängige Prüfungs- und Begutachtungsverfahren von Verbänden und Organisationen entwickelt, die sich mit Desinfektionsmitteln und ihrem Einsatz befassen. Sie erstellen unter der Verwendung von objektiven Prüfungskriterien Anwendungsbedingungen für die Desinfektionsstoffe, geben Anstöße für die Weiterentwicklung bzw. Verbesserung der Präparate, informieren den Verbraucher über die Wirksamkeit der Präparate und unterstützen staatliche Stellen bei der Auswahl geeigneter Desinfektionsmittel.

2.1.6.1. Richtlinien der DVG

Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) hat seit 1974 eigene Prüfverfahren für die Wirksamkeitsbestimmung von Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung und die Lebensmittelhygiene erarbeitet, die sich an die Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) anlehnen.

Es handelt sich hierbei um ein nationales, freiwilliges Prüfverfahren für die chemischen Desinfektionsmittel, die in der Tiermedizin und in der Tierhaltung eingesetzt werden.

Die vergleichende Beurteilung und Bewertung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel erfolgt unter Verwendung einer einheitlichen und reproduzierbare Ergebnisse liefernden Prüfmethodik. Da unter Praxisbedingungen eine Vereinheitlichung nicht zu erreichen ist, fordern die Richtlinien der DVG daher auf reproduzierbare Laboruntersuchungen über das Wirkungsspektrum und die Inaktivierungskinetik von Desinfektionsmitteln. Trotzdem werden Erfordernisse der praktischen Anwendung berücksichtigt. Wegen der Vielfalt der zu inaktivierenden Organismen und der Variabilität der als Träger in Frage kommenden Materialien werden „Modelle“ entwickelt, um den Prüfungsvorgang zu standardisieren. Sie werden unter den Gesichtspunkten ausgewählt, möglichst praxisnah zu sein und eine Übertragung der erzielten Ergebnisse auf andere Keimarten und Keimträger zu erlauben.

Für die Prüfung auf Bakterizidie und Fungizidie sind Testkeime gewählt, die sowohl Infektionserreger als auch Keime repräsentieren, die im Bereich der Lebensmittelhygiene (ausgenommen Sporen der Bacillaceae) eine Rolle spielen. Hinsichtlich der Keimträger wird den erfahrungsgemäß erschwerten Bedingungen der Desinfektion in Tierstallungen durch die Verwendung von Holz als Trägermaterial Rechnung getragen. In den Richtlinien sind ferner Prüfungsbestimmungen für Desinfektionsmittel enthalten, die speziell zur Anwendung in Bereichen des Herstellens, Inverkehrbringens und Behandeln von Tieren stammender Lebensmittel bestimmt sind. Da aufgrund besonderer Beschaffenheit der Flächen, die eine wirkungsvolle Reinigung ermöglicht, in diesen Bereichen andere Anforderungen an Desinfektionsmittel gestellt werden (Kurzzeitwirkung, geringe Aggressivität, Geruchsneutralität usw.), wird bei dieser Prüfung auf Keimträgertests verzichtet und dafür der qualitative Suspensionstest durch einen quantitativen Suspensionstest ergänzt. Aus

anwendungstechnischen Gründen sind auch Prüfungen über die desinfizierende Wirkung bei Temperaturen unter 20°C miteinbezogen.

Bei der Prüfung auf Viruzidie wird der praktische Desinfektionswert eines Präparates nach dem Ergebnis von Keimträgertests an verschiedenen Materialien (Verbandsmüll, Holz) unter Eiweißbelastung beurteilt. Ergebnisse solcher Versuche werden für wichtiger und zuverlässiger gehalten als Befunde aus Praxisversuchen. Bei der Viruzidie- Prüfung kommt es nicht darauf an, eine möglichst große Zahl verschiedener Trägermaterialien zu verwenden, sondern darauf, die wichtigsten physikalischen Bedingungen der Praxis durch Trägermodelle darzustellen. Durch die hohe Eiweißbelastung wird den erschwerten Bedingungen in der Praxis Rechnung getragen. Die Auswahl der Testviren berücksichtigt, dass die Empfindlichkeit gegenüber Desinfektionsmitteln maßgeblich vom Vorhandensein lipidhaltiger Hüllsubstanzen bestimmt wird. Die Verwendung von Testviren mit und ohne Lipidhüllen erlaubt eine den praktischen Erfordernissen entsprechende Trennung in „viruzide“ und „begrenzt viruzide“ Präparate.

Wegen der Bedeutung parasitärer Erkrankungen in der Tierhaltung ist kürzlich eine Prüfmethodik zur Bestimmung der antiparasitären Wirkung von Desinfektionsmitteln in die Richtlinien der DVG aufgenommen worden. Hierbei handelt es sich um standardisierbare sowie einfach durchführbare Suspensions- und Keimträgertests. Zusätzlich geplant ist ein Prüfverfahren für Kokzidienoozysten im Keimträgertest, das modernen methodischen Ansprüchen genügen soll. Bei exakter Durchführung der Prüfungen gemäß den Richtlinien ist eine sichere Beurteilung der bakteriziden, fungiziden, viruziden und antiparasitären Wirkung von Desinfektionsmitteln gewährleistet.

Bestätigen unabhängig voneinander zwei neutrale Gutachter die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels, wird das Präparat in die Liste geprüfter und “von der DVG als wirksam befundener Desinfektionsmittel” aufgenommen.

2.1.6.2. Richtlinien der DGHM

Die Richtlinien der DGHM befassen sich mit der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln, die in der Humanmedizin verwendet werden. Vor der eigentlichen Erprobung eines Desinfektionsmittels für seinen bestimmten Anwendungszweck steht eine Vorprüfung, bestehend aus einem Verdünnungsversuch und einem Suspensionsversuch. Der

Verdünnungsversuch soll klären, in welchen Konzentrationsbereichen das zu beurteilende Präparat bakteriostatisch bzw. fungistatisch wirkt. Anschließend wird im Suspensionsversuch die Inaktivierung der Keime unter Einfluss des Eiweiß- und Seifenfehlers bestimmt. Hat ein Desinfektionsmittel die Vorprüfung „bestanden“, folgt die Hauptprüfung (Keimträgerversuch), bei welcher die erschwerte Bedingung unter Anwendungsgegebenheiten simuliert wird. Hierbei wird, je nach geplanten Einsatzbereich des Desinfektionsmittels (Hände-, Sputum-, Flächen-, Instrumenten-, Wäschedesinfektion), die besondere Eignung in entsprechenden Versuchen geprüft.

2.1.6.3. Richtlinien der DLG

Die Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft (DLG) hat eigene Prüfverfahren für "Stalldesinfektionsmittel", für "Reinigungs- und Desinfektionsmittel" in der Milcherzeugung sowie "Mittel zur Euterhygiene" entwickelt. Die Stalldesinfektionsmittel unterliegen zwei Prüfungsverfahren. Zuerst wird eine Prüfung auf Mikrobizidie durchgeführt, die sich in die gleichen drei Abschnitte wie die Prüfung der DVG unterteilt. Des weiteren prüft die DLG noch anwendungstechnische Gegebenheiten, die sich mit der Materialverträglichkeit, der Benetzbarkeit und den Ausbringungsverfahren der Desinfektionsmittel beschäftigen.

Die Reinigungs- und Desinfektionsmittel für die Milcherzeugung bewerten die Prüfungsrichtlinien der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft und das Institut für Milchhygiene der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel kontrolliert die eingesetzten Mittel in der Euterhygiene.

2.1.7. Zulassung und Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln im Rahmen der Harmonisierungsbestrebungen der EG

Zur Zeit führen die verschiedensten Ländern unterschiedliche Tests zur Überprüfung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel durch, die jedoch nicht miteinander vergleichbar oder offiziell anerkannt sind (REYBROUCK, 1986).

Seit der Harmonisierungsbestrebung der EG (Einführung des Binnenmarktes) ist es notwendig, eine einheitliche Prüfung oder gar Zulassung für chemische Desinfektionsmittel zu erarbeiten, die in der Veterinärmedizin und in der Tierhaltung Verwendung finden soll.

Aufgrund dieser nicht einmal europaweit einheitlichen Prüfsituation schloss sich 1970 das Committee European Normalise (CEN) zusammen, um eine Vereinheitlichung der Bewertungskriterien für Desinfektionsmittel innerhalb Europas zu realisieren.

Mitglieder der CEN sind die Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.

Innerhalb der CEN bearbeiten sogenannte Technical Committees (TC) die jeweiligen Belange, die sich mit einem bestimmten Themenbereich befassen. Für die "Chemischen Desinfektionsmittel und Antiseptika" ist das TC 216 zuständig, das sich wiederum in verschiedene Working Groups (WG) unterteilt. In diesen WG's bestehen teilweise Ad-hoc-Gruppen, die sich mit aktuellen Bedürfnissen befassen.

Die WG 1 des TC 216 bearbeitet die Normungen für humanmedizinische Anwendungen. Die WG 2 ist für den veterinärmedizinischen Bereich und die WG 3 für den Lebensmittelbereich zuständig.

Am weitesten fortgeschritten sind die Arbeiten der WG 1 und 3, insbesondere im Bereich der Entwicklung von Prüfrichtlinien für Desinfektionsmittel bzw. Antiseptika für Instrumente und Hände.

Die Prüfung der Desinfektionsmittel ist in drei Phasen gegliedert. Nach Untersuchungen mit Suspensionsversuchen, werden im zweiten Schritt die Desinfektionsstoffe in Labortests, welche die praktische Anwendungssituation simulieren sollen, geprüft und in der dritten Phase finden Versuche zur Bewertung der Wirksamkeit der Desinfektionsmittel für die jeweilige Anwendung statt. Die Durchführung der Phasen 1 und 2 ist obligat, die der Phase 3 fakultativ.

Entwürfe zur Prüfung der viruziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln und Antiseptika sind im Umlauf, jedoch noch nicht von allen CEN Mitgliedern akzeptiert.

Seit Januar 1999 gibt es eine neue, noch vorläufige Fassung über einen quantitativen Suspensionsversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich.

Dieser Entwurf befindet sich derzeit in Phase 2, Stufe 1. Dies bedeutet, dass die Suspensionsversuche unter Bedingungen durchgeführt werden, die für die praktische Anwendung repräsentativ sind. Im Hinblick auf die Wirksamkeit müssen die in standardisiertem Wasser gelösten Produkte eine Titerreduktion von mindestens 4 log₁₀ Stufen bei 10°C innerhalb von 30 Minuten bewirken. Die Versuche müssen unter geringer (3g/l bovines Serumalbumin) und unter starker Belastung (10g/l Hefeextrakt und 10g/l bovines Serumalbumin) durchgeführt werden.

Wahlweise können zusätzlich Einwirkzeiten von 1, 5 und 60 Minuten und Umgebungstemperaturen von 4, 20 und 40°C bei der Untersuchung berücksichtigt werden.

An Testvirusarten werden das unbehüllte Enteritic Cytopathogenic Bovine Orphan Virus (ECBO) und das behüllte Bovine Herpes Virus Typ 2 (Mammilitis Virus) vorgeschlagen. Diese Testviren werden jedoch bisher noch nicht von allen CEN-Mitgliedern akzeptiert.

Die von der CEN gestellten Anforderungen unterscheiden sich von denen der DVG insbesondere dadurch, dass lediglich zwei Testviren verwendet werden und die Prüftemperatur bei 10°C liegt, im Gegensatz zu 20°C bei den DVG-Richtlinien.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Testviren

Als Testviren dienten das Equine Arteritisvirus (EAV/Stamm Bucyrus, CVL-Weybridge) der ersten Gießener Passage und das Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan (ECBO/Stamm LCR-4).

Das EAV ist ein ca. 50 bis 70 nm großes, behülltes Virus mit einer einsträngigen RNA und gehört zur Familie der Arteriviridae.

Das ECBO-Virus ist ein kleines (24-30nm), unbehülltes Virus mit einer einsträngigen RNA und gehört zum Genus Enterovirus der Familie der Picornaviridae.

3.1.2. Zellkulturen

Für die Vermehrung und für den Nachweis der Infektiosität des EAV im Neutralisationstest dienten Verozellen und des ECBO-Virus Madin-Darby-Bovine-Kidney-Zellen.

Verozellen (CCL81) sind eine permanente Zelllinie aus der Niere der afrikanischen grünen Meerkatze, die eine gute Empfänglichkeit für das EAVirus besitzen.

Madin-Darby-Bovine-Kidney sind eine Zelllinie, die aus Rindernieren gewonnen wurde.

Die Vermehrung der Zellen erfolgte in Eagles Minimal Essential Medium (MEM) (Fa. Biochrom, Berlin) in Roux – Zellkulturflaschen (Fa. Bellco, Vineland) mit einer nutzbaren Zellwachstumsfläche von 162 cm². Zum Anzuchts- und Erhaltungsmedium wurden 2% bzw. 5% fetales Kälberserum (FKS) (Fa. PAN Biotech, Aidenbach) zugegeben.

Zur Subkultivierung wurde das Medium dekantiert, der Zellrasen mit einer 0,25%igen Trypsin-Versen Lösung gewaschen und anschließend mit einer den Zellrasen gerade benetzenden Menge der Trypsin-Versen Lösung bei 37°C inkubiert, bis die Zellen in Suspension gingen. Nach Verdünnung der Zellen im Anzuchtsmedium erfolgte die Aussaat in einer Konzentration von ca. 10⁶ Zellen pro ml MEM.

3.1.3. Virusvermehrung

a) Saatvirus

Zur Herstellung des Saatvirus wurden konfluente Monolayer nach Entfernung des Anzucht-Mediums und einmaligem Waschvorgang mit PBS (Phosphat buffered saline) mit einer *moi* (multiplicity of infection) von 0,01 mit EAV bzw. ECBO-Virus (Punkt III.1.1.) beimpft.

Nach Adsorption der Virussuspension für eine Stunde bei 37°C wurden die Inokula dekantiert, der Zellrasen einmal mit PBS gewaschen und anschließend mit Erhaltungsmedium (MEM, Fa. Biochrom, Berlin) mit Zusatz von 2 % fetalem Kälberserum (FKS) (Fa. PAN Biotech, Aidenbach) im feuchtigkeitsgesättigten Brutschrank bei 37°C inkubiert.

Die Virusernte erfolgte nach Auftreten eines vollständigen *cpE* (EAV – nach ca. 3 Tagen; ECBO – nach ca. 1 Tag). Die Viruszellsuspension wurde nach einmaligem Einfrieren (-70°C) und Auftauen für 10 Minuten bei 1000 xg zentrifugiert, um den Zelldetritus zu sedimentieren. Der Überstand wurde in Aliquots von je 1,0 ml bei -70°C tiefgefroren.

b) Testvirus

Die Vermehrung des Testvirus erfolgte analog zu der des Saatvirus. Zur Ernte wurden die Kulturen einmal gefroren und getaut und die Zell-Virussuspension mit Ultraschall Stufe 7 (Sonifier, Fa. Branson) für 30 sec. behandelt.

Darauf folgte eine niedertourige Klärung der Suspension durch Zentrifugation bei 1000 xg für 30 Minuten. Im Anschluß wurde die Virussuspension in der Ultrazentrifuge (Fa. Beckmann) 2 Stunden bei 12000 xg und 4°C im Rotor (45 Ti) pelletiert und das Pellet mittels Ultraschall in PBS suspendiert, aliquotiert und bei -70°C bis zur Verwendung gelagert.

3.1.4. Bestimmung des Infektiositätstiters

Zur Ermittlung der Infektiositätstiter wurde eine dekadische Verdünnungsreihe in MEM mit 5% FKS hergestellt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden je 0,1 ml in vier Vertiefungen einer Mikrotiterplatte mit einem konfluenten Rasen der entsprechenden Zellkultur einpipettiert.

Die Kulturen wurden während der Bebrütung bei 37°C im feuchtigkeitsgesättigten Brutschrank mit einer Atmosphäre von 5% CO₂ täglich lichtmikroskopisch kontrolliert. Nach einem Zeitraum von drei (ECBO-VIRUS) bzw. fünf (EAV) Tagen wurde die KID50/ml (50% kulturinfektiösen Dosen pro ml) anhand des lichtmikroskopisch feststellbaren cpE nach der Methode von SPEARMAN und KAERBER berechnet.

3.1.5. Desinfektionsmittel

Für die Untersuchungen wurden sechs kommerziell erhältliche Desinfektionsmittel der X. Desinfektionsmittelliste der DVG und weiterhin vier Grundchemikalien, die als Wirkstoffe in diesen Desinfektionsmitteln enthalten waren, in der Untersuchung verwendet (Tabelle 1).

Tabelle 1: Verwendete Desinfektionsmittel und ihre Wirkstoffzusammensetzung, soweit vom Hersteller angegeben

Handelsname	Hersteller	Inhaltsstoffe
<u>Aldekol – Des – 02</u>	Fa. EWABO – Chemikalien GmbH	14% Glutar- und 13% Formaldehyd, 12,5% Alkyl-Benzyl-Dimethylammoniumchlorid und Alkoholen.
<u>Divosan SD</u>	Fa. DIVERSEY	Tetraalkylammoniumchlorid und Formalin
<u>Orbivet</u>	Fa. SCHÜLKE & MAYR GmbH	9% Formaldehyd, 7,5% Glutaraldehyd, 10% Propanol, 16 % Natriumalkylsulfonat und 3% Alkylpolyethoxilat

Fortsetzung Tabelle 1

<u>Proxitane AHC</u>	Fa. SOLVAY-INTEROX GmbH	von 5% Peressigsäure, 10% Essigsäure und 15-20% Wasserstoffperoxid
<u>Venno –Vet 1 Super</u>	Fa. VENNO GmbH	55% aus Ameisensäure und zu 7% aus Glyoxysäure
<u>Halamid</u>	Fa. AKZO Chemicals GmbH	20% aktivem Chlor (100% Natrium-p-toluolsulfonchloramid).
<u>Formaldehyd</u>	Fa. MERCK Darmstadt	35%ig mit 9-11% Methanol
<u>Natriumhypochlorit</u>	Fa. MERCK Darmstadt	13%ig
<u>Ameisensäure</u>	Fa. MERCK Darmstadt	98-100%ig
<u>Peressigsäure</u>	Fa. MERCK Darmstadt	40%ig

3.1.6. Sensorische Prüfung der Desinfektionsmittel

Für die sensorische Prüfung der Desinfektionsmittel wurden ca. 5 ml der Desinfektionsmittel in ein 50 ml Becherglas pipettiert und anschließend Farbe, Geruch und Konsistenz beurteilt. Bei der Herstellung der Reaktionsgemische wurde weiterhin die Löslichkeit des Desinfektionsstoffes in Wasser und in Gegenwart von 40%igen FKS in wässrigem Milieu bewertet.

Die Ergebnisse sind unter 3.2.1. tabellarisch zusammengefasst.

3.1.7. Prüfung der viruziden Wirkung im Suspensionsversuch

Die Untersuchungen erfolgten in Anlehnung an die von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) herausgegebenen „Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel“ (10.-Auflage).

Zunächst wurden von den zu untersuchenden Desinfektionsmitteln Verdünnungen in einem Volumen von jeweils 20 ml hergestellt, die dem Zehnfachen ihrer Anwendungskonzentration entsprachen.

Die Reaktionsgemische bestanden aus einem Teil Virussuspension, acht Teilen PBS (Ansatz ohne Eiweiß) bzw. acht Teilen FKS (Ansatz mit Eiweiß) und zwei Teilen des zu prüfenden Desinfektionsmittels in zehnfacher Konzentration.

Mit Zugabe des Desinfektionsmittels in das Reaktionsgemisch begann die Einwirkzeit. Nach verschiedenen Einwirkungszeiten (15, 30, 60 und 120 Minuten) wurden Proben von 0,1 ml entnommen, in 9,9 ml MEM suspendiert und anschließend in Zehnerschritten in MEM weiterverdünnt.

Parallel zu den Prüfansätzen wurden Reaktionsgemische hergestellt, die anstelle des Desinfektionsmittels Aqua destillata enthielten (Viruskontrollen).

Die Infektiositätstiter der Prüfansätze und der mitgeführten Viruskontrollen wurden analog den Angaben unter Punkt 3.1.4. abgelesen.

Die Differenz der Infektiositätstiter von Viruskontrolle und dem Prüfansatz ergab die Titerreduktion.

3.1.8. Temperatur

Die zu untersuchenden Desinfektionsmittel wurden zunächst bei Zimmertemperatur ($20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) auf ihre viruzide Wirksamkeit gegen EAV und ECBO-Virus geprüft. Anschließend erfolgten die gleichen Versuche bei Temperaturen von 10°C und 4°C in einem konstant temperierten Wasserbad (COLORA MESSTECHNIK GmbH LORCH/WÜRTT. Typ WK9). Die Reagenzgläser, mit den aus acht Teilen PBS bzw. FKS und einem Teil Virussuspension enthaltenden Reaktionsgemischen wurden in das vorgekühlte Wasserbad gestellt und solange gekühlt, bis das Thermometer in einem zusätzlich mitgeführten Reagenzröhrchen, das mit Wasser in entsprechender Menge gefüllt war, die gewünschte Temperatur anzeigte. Anschließend wurden zwei Teile des zu prüfenden Desinfektionsmittels zugegeben und der Beginn der Einwirkungszeit protokolliert. Nach Ablauf von 15, 30, 60 und 120 Minuten wurden jeweils 0,1 ml des Testansatzes entnommen, in 9,9 ml vorgekühltem MEM suspendiert und anschließend, wie unter Punkt 3.1.7. bzw. 3.1.4. angegeben, der Infektiositätstiter bestimmt.

3.1.9. Wiederholungsversuche

Nach Abschluss der Untersuchungen wurden alle unter Punkt 3.1.5. aufgeführten Desinfektionsmittel in einem Wiederholungsversuch erneut auf ihre viruzide Wirksamkeit gegen EAV und ECBO-Virus bei Temperaturen von 20°C, 10°C und 4°C geprüft. Für diese Wiederholungsversuche wurden jedoch lediglich Desinfektionsmittelkonzentrationen verwendet, die nach den Ergebnissen der bereits durchgeführten Versuche die Bereiche von wirksam und nicht wirksam abdeckten.

3.1.10. Bestimmung der Korrekturfaktoren

Die Versuche zur Desinfektion des EAV und ECBO- Virus in der Suspension haben gezeigt, dass bei Temperaturen unter 20°C (10°C und 4°C) die Konzentration des Desinfektionsmittels für eine ausreichende Desinfektion zu erhöhen bzw. die Einwirkungszeit zu verlängern war. In Bezug auf die Anwendung der Desinfektionsmittel bei 4°C geben die Temperaturfaktoren TF_K und TF_E an, um welchen Faktor die Konzentration des Desinfektionsmittels bei gleichbleibender Einwirkzeit zu erhöhen ist bzw. die Einwirkungszeit bei gleichbleibender Konzentration zu verlängern ist, um jeweils eine weitgehend übereinstimmende Wirksamkeit wie bei 20°C zu erzielen. In der Tabelle 3 unter Punkt III.3. sind die ermittelten Temperaturfaktoren der untersuchten Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von der Eiweißbelastung für behüllte (EAV) und unbehüllte Viren (ECBO) wiedergegeben.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Ergebnis der sensorischen und optischen Prüfung der verwendeten Desinfektionsmittel

Für die sensorische Prüfung der Desinfektionsmittel wurden ca. 5 ml der Desinfektionsmittel in ein 50 ml Becherglas pipettiert und anschließend Farbe, Geruch und Konsistenz beurteilt. Bei der Herstellung der Reaktionsgemische wurde weiterhin die Löslichkeit des Desinfektionsstoffes in Wasser und in Gegenwart von 40%igen FKS in wässrigem Milieu bewertet.

Tabelle 2: Ergebnis der sensorischen und optischen Prüfung der verwendeten Desinfektionsmittel

Desinfektionsmittel	Farbe / Konsistenz	Geruch	Löslichkeit in Wasser (zehnfache DM-Konzentration)	Löslichkeit in 40%igem FKS (Gebrauchslösung)
Aldekol-Des-02	klar, dickflüssig	chlorig-muffig	vollständige Lösung, keine Schaumbildung	vollständige Lösung
Divosan SD	klar, dickflüssig	chlorig-modrig	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	Flockenbildung ab 4%iger Konzentration
Orbivet	klar, wässrig	modrig, leicht beißend	vollständige Lösung, starke Schaumbildung	vollständige Lösung
Proxitane AHC	klar, dünnflüssig	chlorig-stechend	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung
Venno-Vet-1 Super	klar-gelblich, dünnflüssig	modrig-stechend	vollständige Lösung, starke Schaumbildung	Flockenbildung ab 1%iger Konzentration

Halamid	weißes, kristallines Pulver	schwach chlorig	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung
Formaldehyd	farblos, dünnflüssig	scharf stechend	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung
Natriumhypo- chlorit	farblos, dünnflüssig	schwach chlorig	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung
Ameisensäure	farblos, dünnflüssig	scharf stechend	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung
Peressigsäure	farblos, dünnflüssig	scharf stechend	vollständige Lösung, geringe Schaumbildung	vollständige Lösung

3.2.2 Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel gegenüber EAV und ECBO- Virus bei verschiedenen Temperaturen im Suspensionsversuch

Nachfolgend sind die Infektiositätstiter von EAV und ECBO- Virus nach unterschiedlicher Einwirkungsdauer der in verschiedenen Konzentrationen untersuchten Desinfektionsmittel wiedergegeben. Die graphischen Darstellungen repräsentieren jeweils die Ergebnisse der ersten Versuchsansätze und geben lediglich nur jenen Ausschnitt der Untersuchungen wider, der den Bruch zwischen “wirksam” und “nicht wirksam” erkennen lässt. Die Wiederholungsversuche ergaben nur geringfügige Abweichungen von den Ergebnissen der ersten Versuchsansätze. Die Resultate aller durchgeführten Untersuchungen sind dem Anhang 1 und 2 zu entnehmen.

3.2.2.1. Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel unter Verwendung von EAV als Testvirus

3.2.2.1.1. Formaldehyd

Bei der Prüfung von Formalin als Desinfektionsmittel war bei 20°C im Ansatz ohne Eiweißbelastung mit 0,5% der Substanz nach einer Einwirkzeit von 120 min eine Reduktion des EAV- Titors um mehr als 4 Zehnerpotenzen vorhanden. Mit Abnahme der Einwirkungszeit von 60 auf 15 min reduzierte sich der Titer um jeweils ca. 1 Zehnerpotenz (Abb.1.1.).

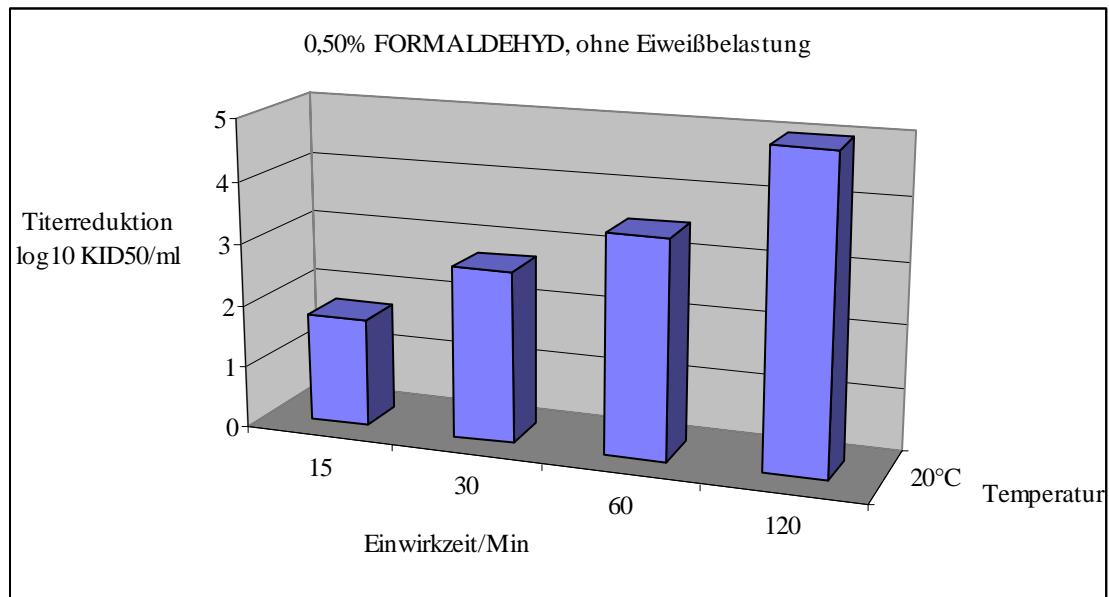


Abb.1.1.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Nach den bei 10°C durchgeführten Versuchen war dagegen zur Erzielung entsprechend hoher Titerreduktionen eine Erhöhung der Konzentration des Formaldehyds um das 4- fache gegenüber dem Ansatz bei 20°C erforderlich (Abb.1.2.).

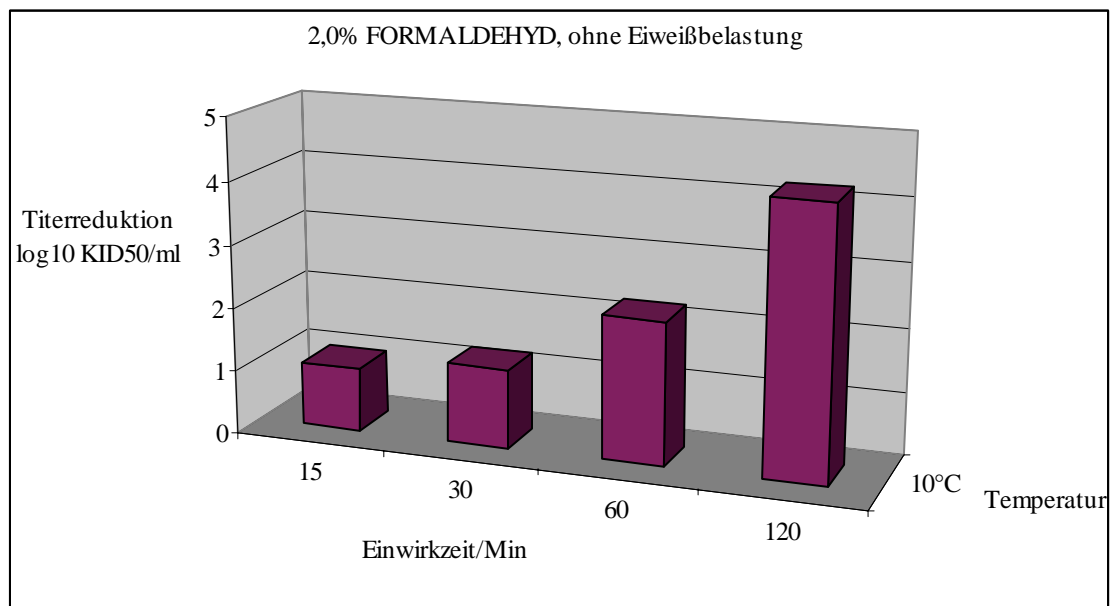


Abb.1.2.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei weiterer Absenkung der Temperatur im Desinfektionsansatz auf 4°C führte auch die Anwendung einer 3%igen Formaldehydlösung innerhalb eines Zeitraumes von 120 min nicht zu einer ausreichenden Virusinaktivierung (Abb.1.3.).

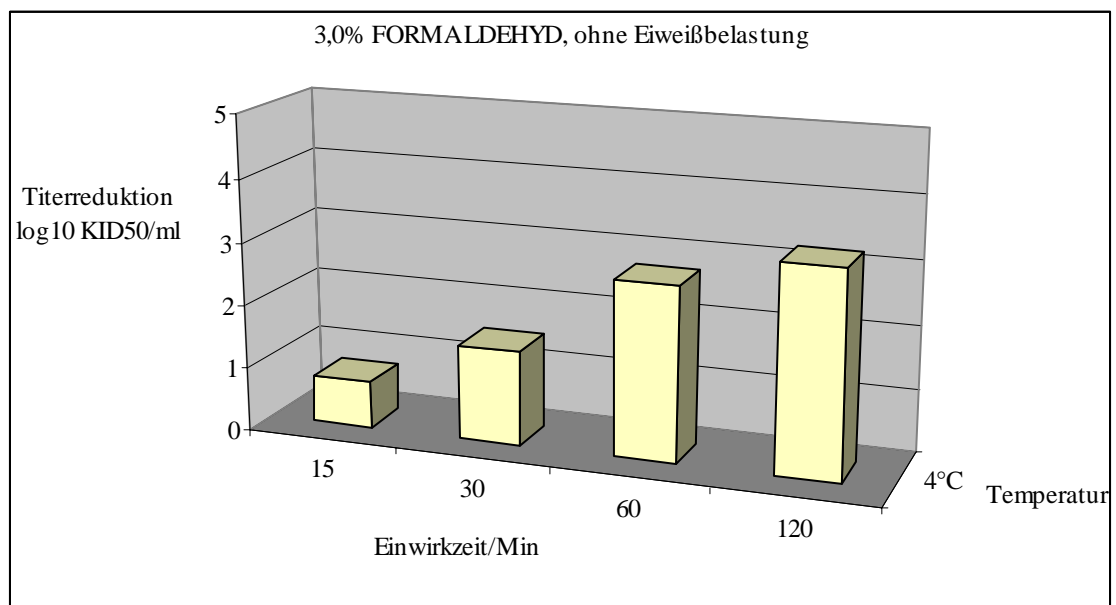


Abb.1.3.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Wegen der ausgeprägten Zytotoxizität des Formaldehyds wurden Untersuchungen mit > 3% der Substanz im Reaktionsgemisch nicht durchgeführt.

Die bei 20°, 10° und 4°C durchgeführten Versuche zur Desinfektion des EAV unter Eiweißbelastung erbrachte zu den Versuchen ohne Eiweißbelastung weitgehend übereinstimmende Ergebnisse (Abb.1.4. –1.6.).

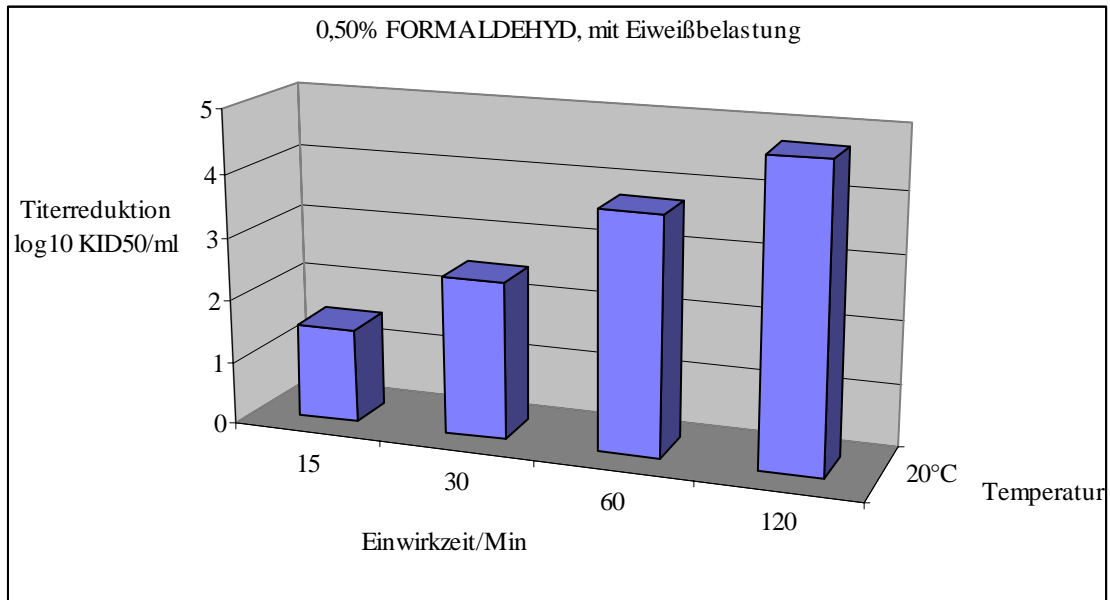


Abb.1.4.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Auch in diesen Ansätzen erwiesen sich bei 20°C eine 0,5%ige Lösung und bei 10°C eine 2%ige Lösung nach einer Einwirkungszeit von jeweils 120 min als ausreichend wirksam (Abb.1.4., Abb.1.5.).

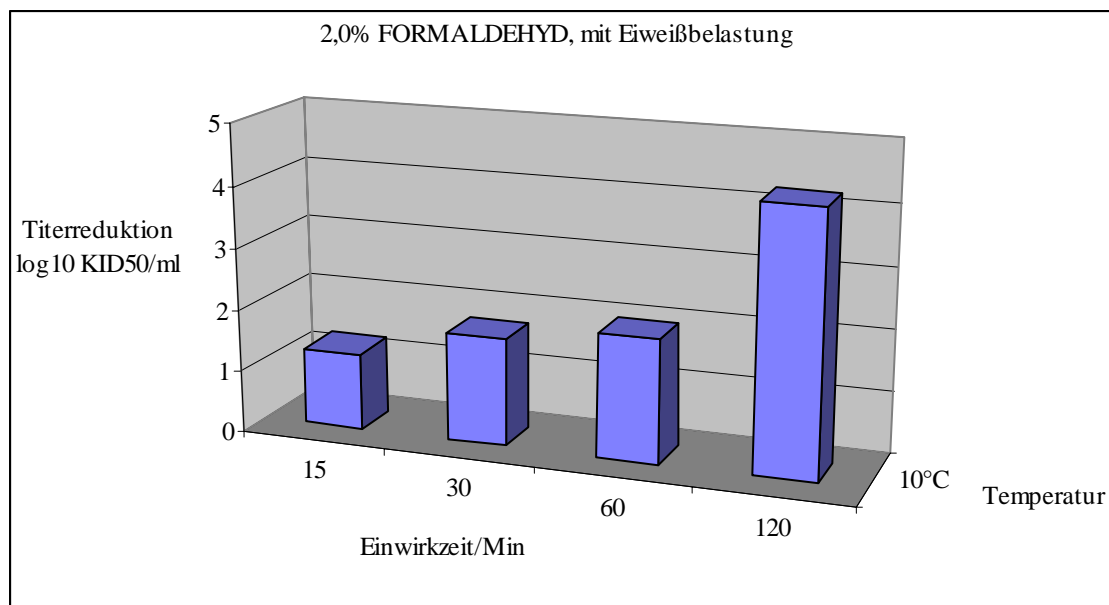


Abb.1.5.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Entsprechend führte bei 4°C die 3%ige Lösung nach 120 min nicht zu einer ausreichenden Inaktivierung (Abb.1.6.). Auffallend war bei den Versuchen mit Formaldehyd sowohl in den Ansätzen ohne als auch mit Eiweißbelastung, dass bei der Temperatur von 10°C im Gegensatz zu 20°C und 4°C, die Titerreduktion mit Zunahme der Einwirkzeit einen verzögerten Verlauf nahm (Abb.1.2., Abb.1.5.).

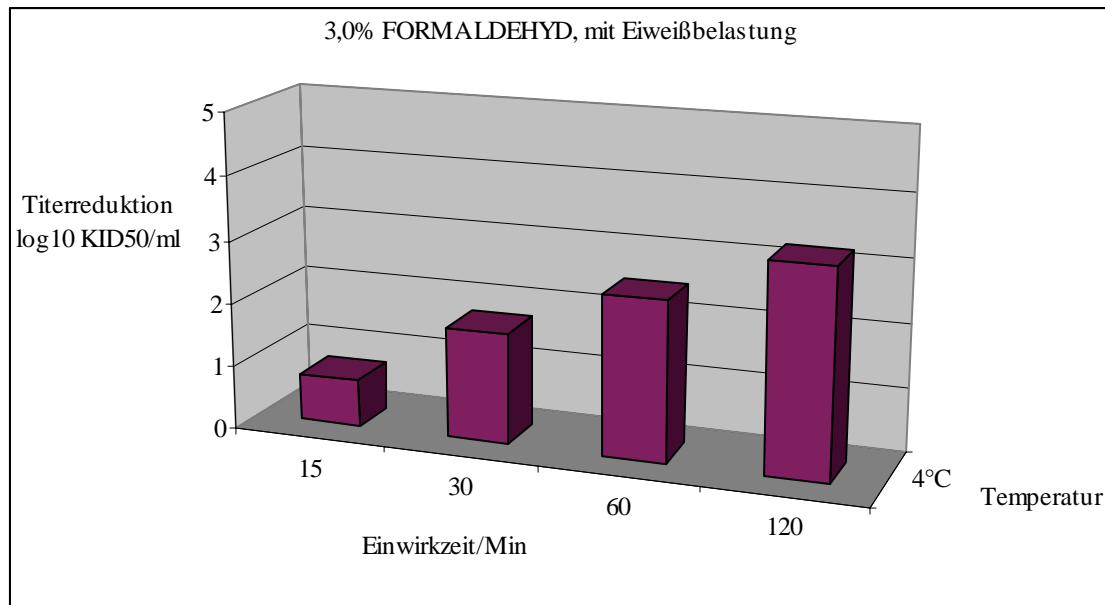


Abb.1.6.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.2. Natriumhypochlorit

Gegenüber dem EAV erwies sich Natriumhypochlorit bei 20°C im Testansatz ohne Eiweißbelastung in einer Konzentration von 0,05% nach einer Einwirkungszeit von 60 min als ausreichend viruzid (Titerreduktion um mehr als 4 Zehnerpotenzen) (Abb.2.1.).

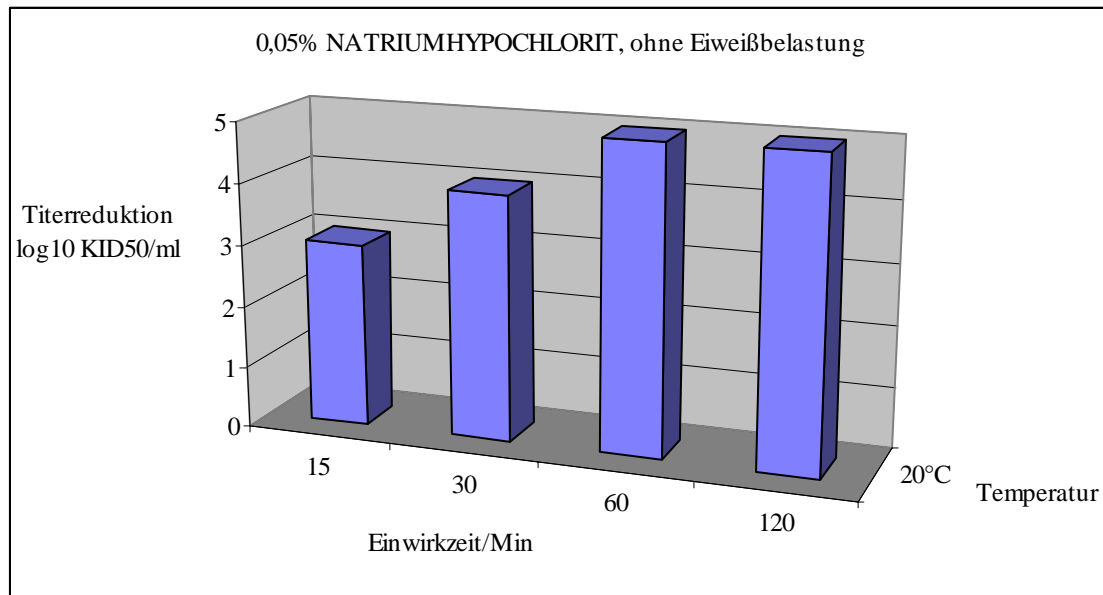


Abb.2.1.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei Absenkung der Temperatur auf 10°C war erst durch eine 0,1%ige Natriumhypochloritkonzentration eine Titerreduktion von mehr als 4 Zehnerpotenzen nachweisbar, dies jedoch bereits nach 15 min (Abb.2.2.). Im Wiederholungsversuch (siehe Anlage) waren 30 min erforderlich.

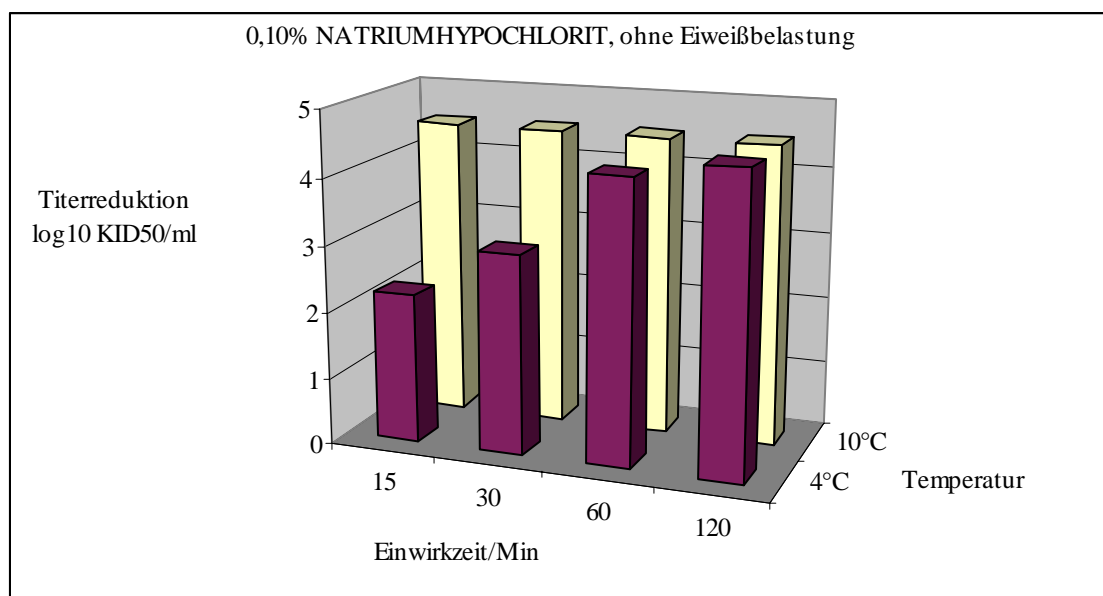


Abb.2.2.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei 4°C führte dagegen die 0,1%ige Natriumhypochloritlösung erst nach einer Einwirkungszeit von 120 min zu einer Reduktion des EAV- Titors um mehr als 4 Zehnerpotenzen (Abb.2.2.).

Auch bei den Versuchen unter Eiweißbelastung waren bei allen Temperaturen bis zu 30-fach höhere Natriumhypochloritkonzentrationen für eine wirksame Desinfektion erforderlich. Bei 20°C erbrachte eine 0,5%ige Desinfektionsmittellösung nach zwei Stunden Einwirkungszeit eine ausreichende Titerreduktion des EAV (Abb.2.3.).

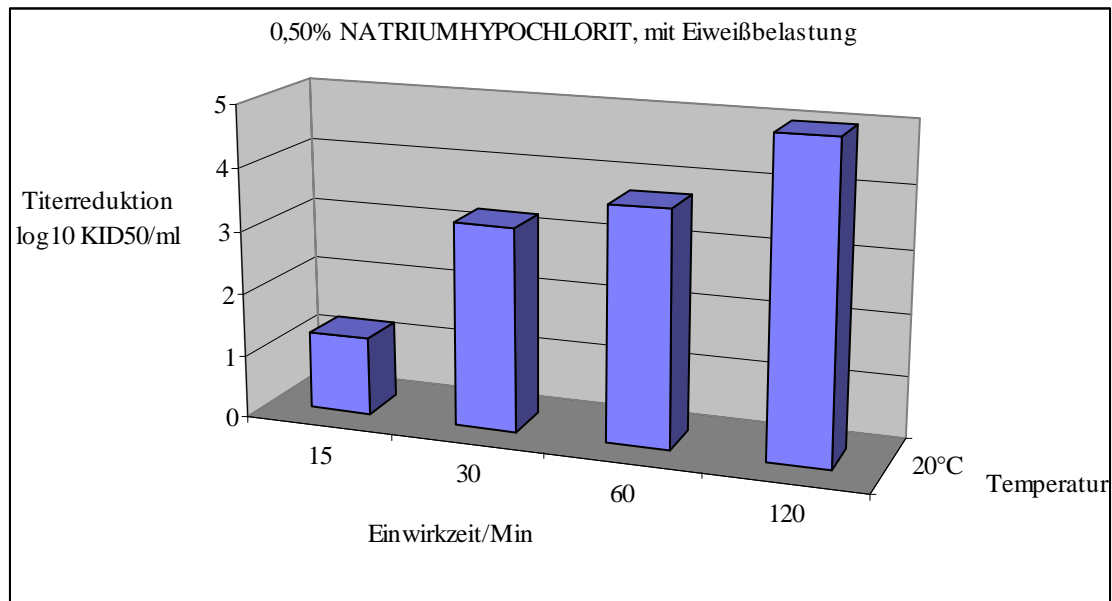


Abb.2.3.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Im Wiederholungsversuch war eine entsprechende Titerreduktion bereits nach 60 min vorhanden (tabellarischer Anhang).

Bei einer Temperatur von 10°C war zur Erzielung einer vergleichbaren Titerreduktion wie bei 20°C (Abb.2.4.) eine Vervierfachung der Desinfektionsmittelkonzentration auf 2% erforderlich.

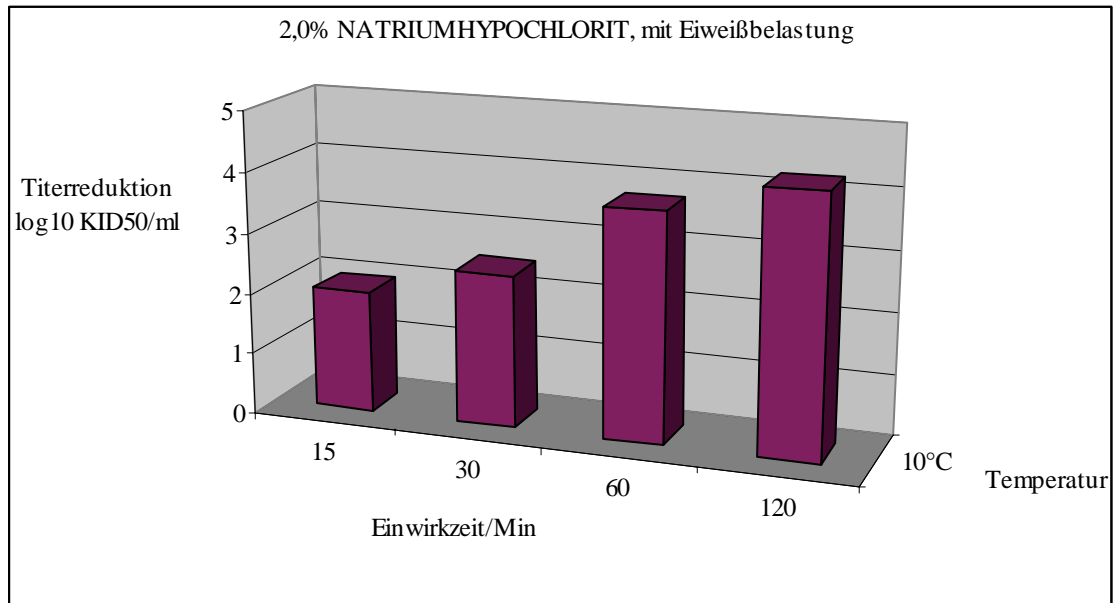


Abb.2.4. : Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei weiterer Absenkung der Reaktionstemperatur auf 4°C führte sogar erst eine Versechsfachung der Konzentration des Desinfektionsmittels nach 120 min Einwirkungszeit zu einer ausreichenden Titerreduktion (Abb.2.5.). Im Vergleich zu den Ansätzen ohne Eiweißbelastung musste bei einer Reaktionstemperatur von 4°C die Desinfektionsmittelkonzentration verdreißigfacht werden, um unter Eiweißbelastung die gewünschte Titerreduktion zu bewirken.

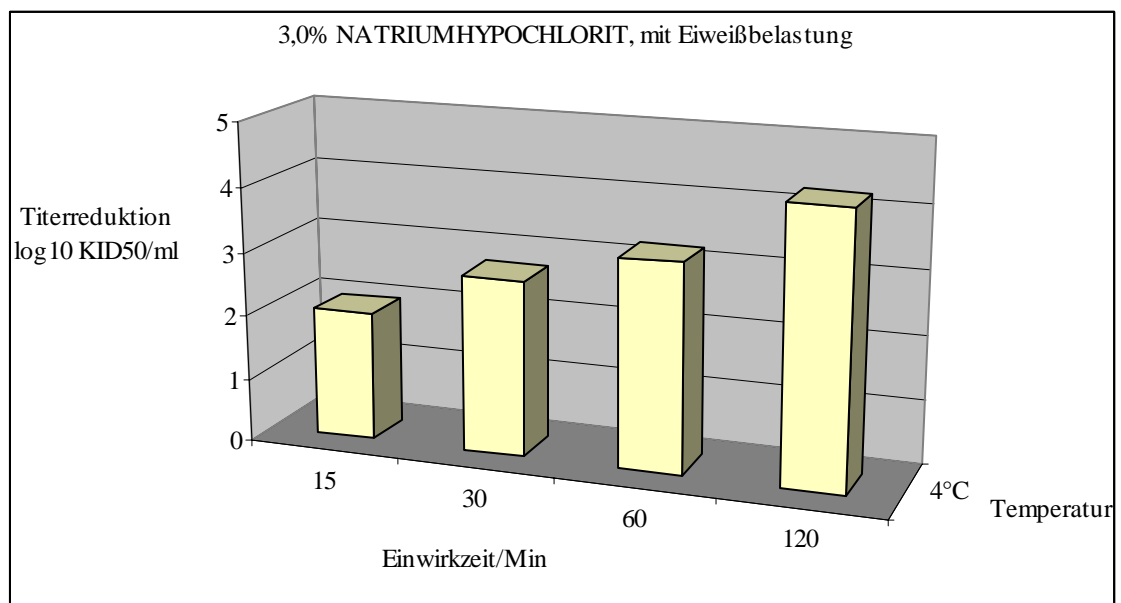


Abb.2.5.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.3. Ameisensäure

Bei den Versuchen mit Ameisensäure wurde das EAV bei 20°C durch eine 0,1%ige Ameisensäurelösung im Ansatz ohne Eiweißbelastung innerhalb von 120 min ausreichend inaktiviert (Abb.3.1.).

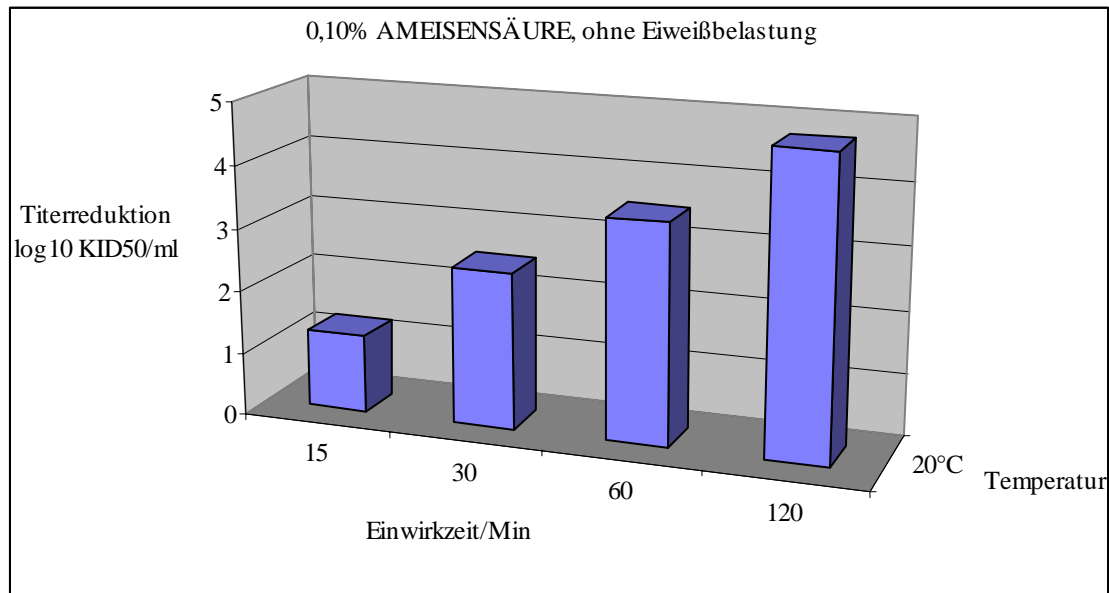


Abb.3.1.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Für eine vergleichbare Wirksamkeit waren bei 10°C als auch bei 4°C Ameisensäurekonzentrationen von jeweils 2,0% erforderlich (Abb.3.2.). Auffallend waren die nur geringfügigen Unterschiede zwischen den Versuchen bei 4°C und 10°C.

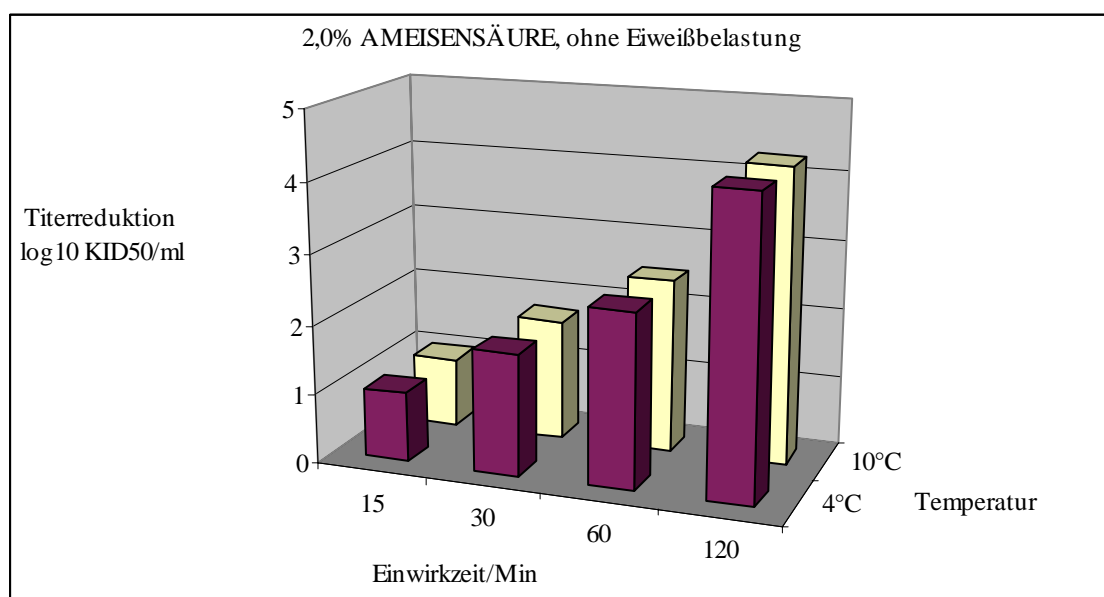


Abb.3.2.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

In den Ansätzen mit Eiweißbelastung bei 20°C bewirkte im Vergleich zu den Versuchen ohne Eiweißzusatz erst eine fünffach höhere Ameisensäurelösung (0,5%) eine Reduktion des EAV-Titers um mehr als 4 Zehnerpotenzen (Abb.3.3.), dies jedoch bereits nach 30 min.

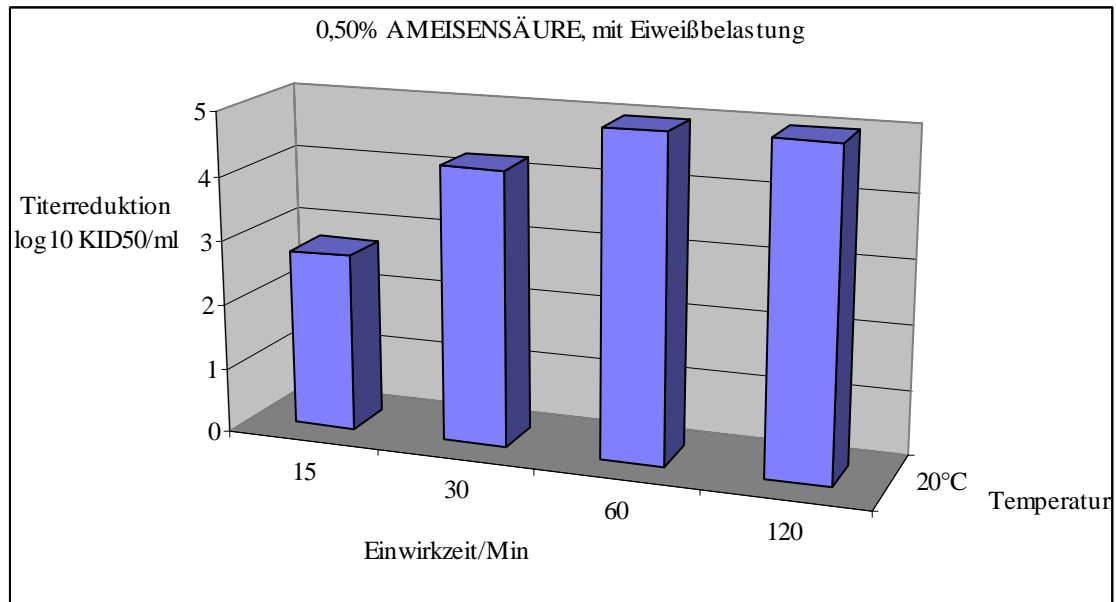


Abb.3.3.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei Temperaturen von 10°C und 4°C waren mit einer 3%igen Ameisensäurelösung Titerreduktionen in vergleichbarer Höhe nachweisbar (Abb.3.4.) wie im Ansatz ohne Eiweiß (Abb.3.2.).

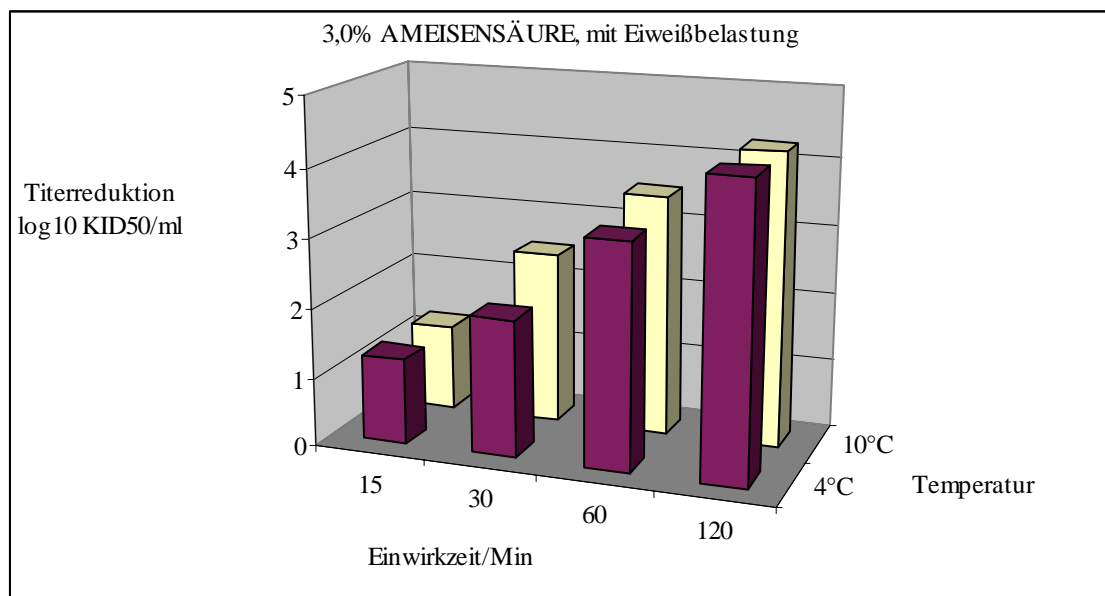


Abb.3.4.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.4. Peressigsäure

In den Versuchen mit Peressigsäure reduzierte 0,005%ige Lösung im Ansatz ohne Eiweiß die Infektiosität des EAV bereits innerhalb von 15 min bei 20°C bis unter die Nachweisgrenze. Niedrigere Konzentrationen der Peressigsäure wurden nicht untersucht. Auch bei den Temperaturen von 10°C und 4°C erfolgte unter Verwendung der 0,005%igen Lösung eine sichere Desinfektion innerhalb von 15 min (10°C) bzw. 60 min (4°C) (Abb.4.1.).

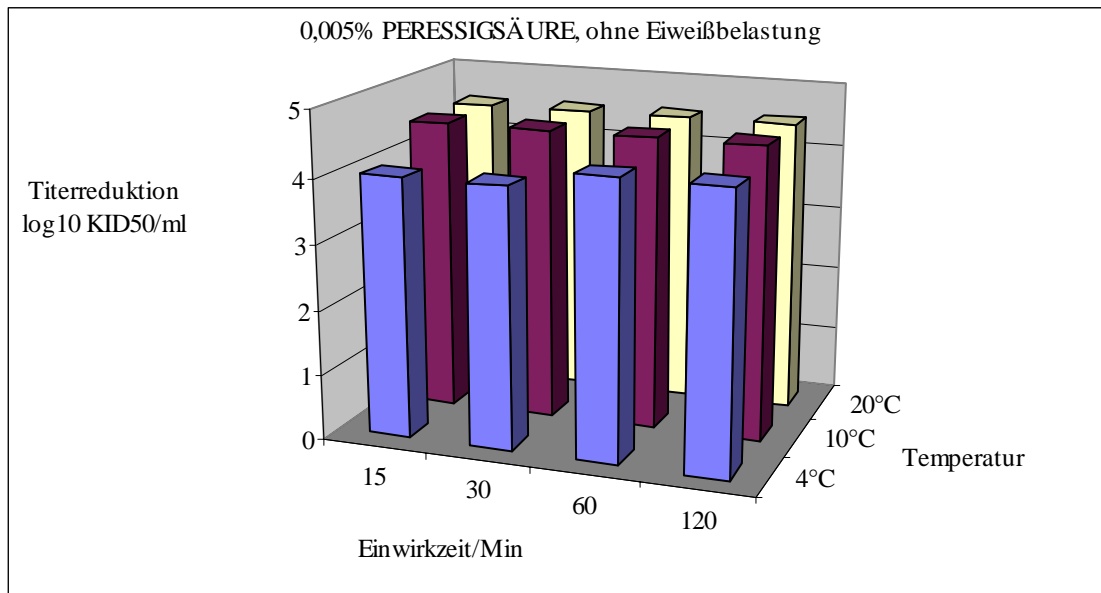


Abb.4.1.: Viruzide Wirksamkeit von Peressigsäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung war bei allen geprüften Temperaturen für eine vergleichbare Wirksamkeit wie in den Ansätzen ohne Eiweiß eine Erhöhung der Peressigsäurekonzentration um das Doppelte (0,01%) erforderlich. Wie in Abb.4.2. zu sehen ist, war bei einer Temperatur von 20°C und 10°C nach 30 min Einwirkungszeit und bei 4°C nach einer Einwirkungszeit von 120 min eine ausreichende Titerreduktion erreicht.

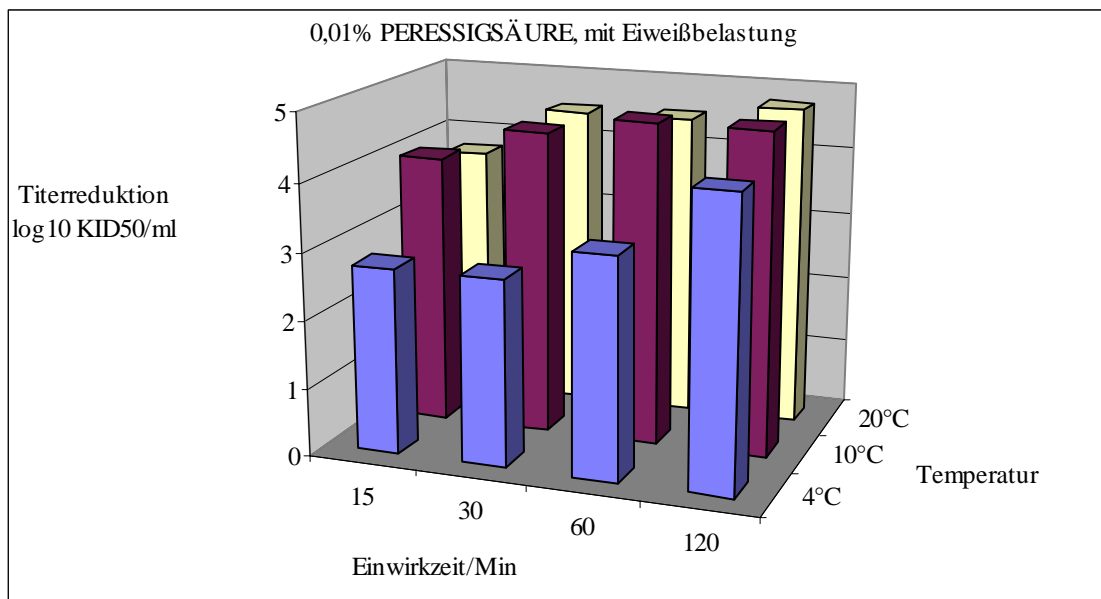


Abb.4.2.: Viruzide Wirksamkeit von Peressigsäure gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.5. Aldekol-Des-02

Die Untersuchungen mit dem kommerziell erhältlichen Präparat Aldekol-Des-02 zeigten, dass eine 0,05%ige Desinfektionsmittelkonzentration sowohl bei 20° als auch bei 10° und 4°C ausreichte, um das EAV zu inaktivieren. Bei einer Temperatur von 20°C war nach 30 min eine Titerreduktion von mehr als 4 Zehnerpotenzen vorhanden, bei 10°C nach 60 min und bei 4°C nach 120 min (Abb.5.1.).

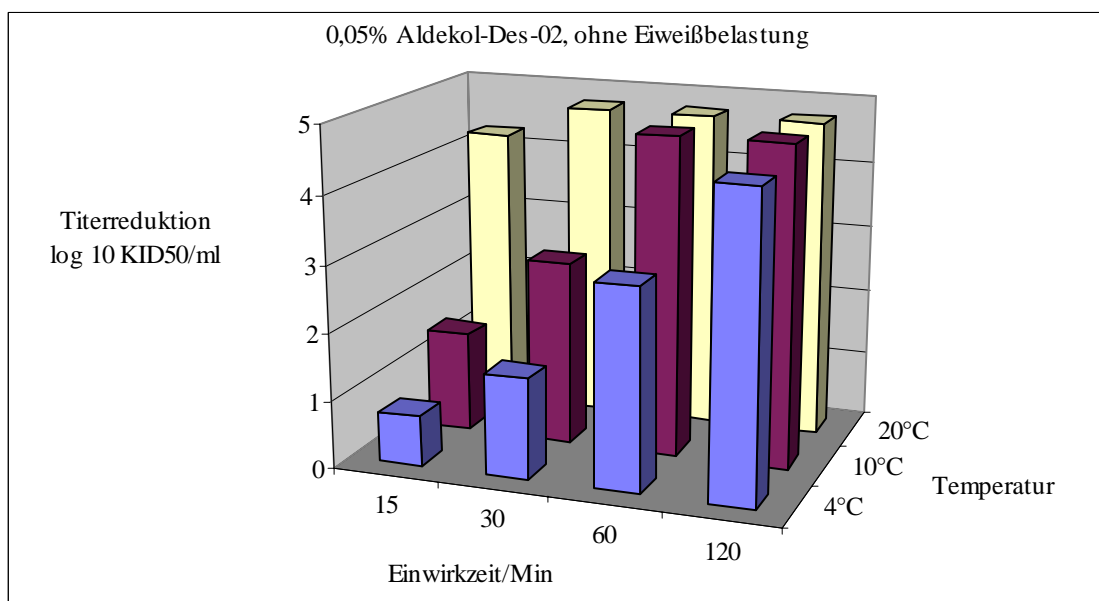


Abb.5.1.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung waren für eine sichere Desinfektion des EAV höhere Konzentrationen und/oder Einwirkungszeiten von Aldekol-Des-02 erforderlich. Bei 20°C führte eine 0,1%ige Lösung nach 60 min zu einer ausreichenden Inaktivierung des EAV (Abb.5.2.).

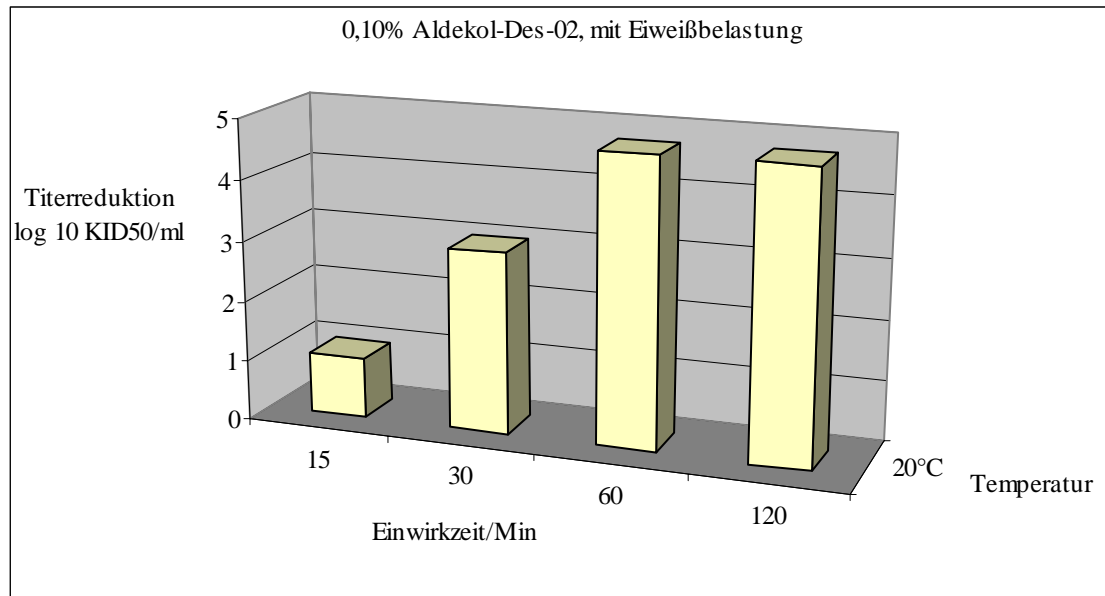


Abb.5.2.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Für eine wirksame Desinfektion bei 10°C und 4°C war dagegen eine Desinfektionsmittelkonzentration von 0,5% notwendig. Eine sichere Wirkung trat nach 30 min (10°C) bzw. 120 min (4°C) ein (Abb.5.3.).

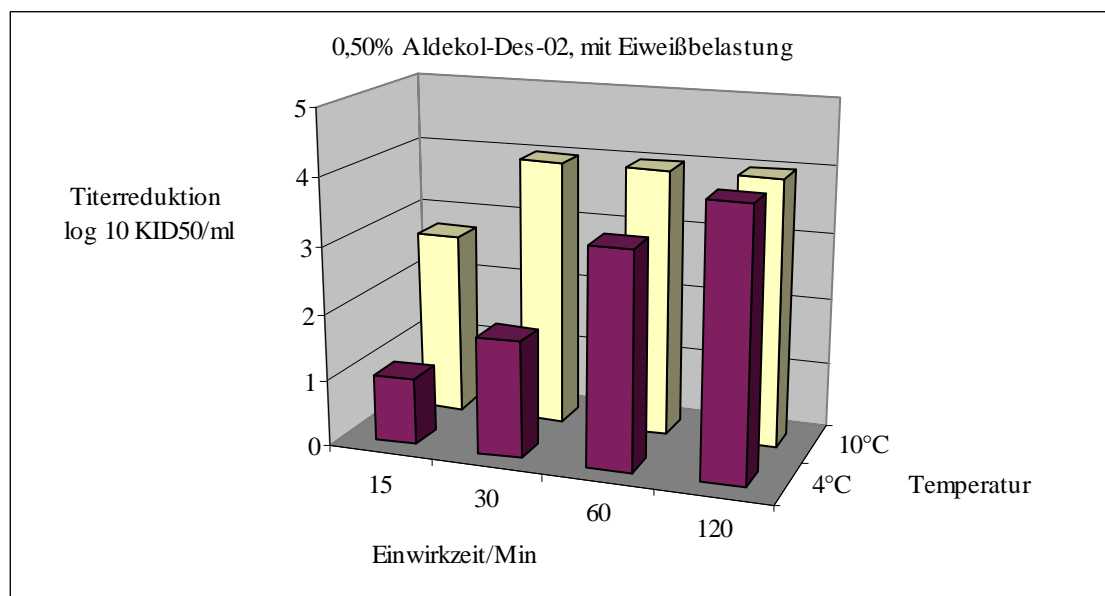


Abb.5.3.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.6. Divosan SD

Die Suspensionsversuche in den Ansätzen mit dem Desinfektionsmittel Divosan SD ohne Proteinbelastung zeigten, dass eine 0,05%ige Lösung bei 20°C bereits nach 15 Min und bei einer Temperatur von 10°C nach 60 Min eine Reduktion des EAV- Titors um 4 log₁₀-Stufen bewirkte (Abb.6.1.).

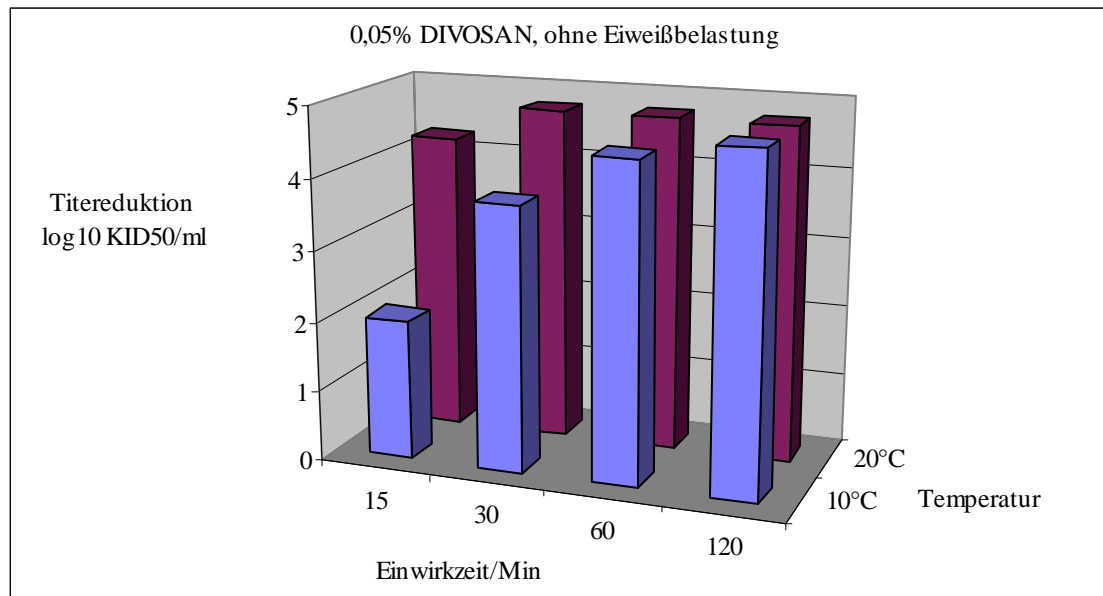


Abb.6.1.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Eine ausreichende Virusinaktivierung trat dagegen bei 4°C erst unter Verwendung einer Divosankonzentration von 0,1% innerhalb von 60 min ein (Abb.6.2.).

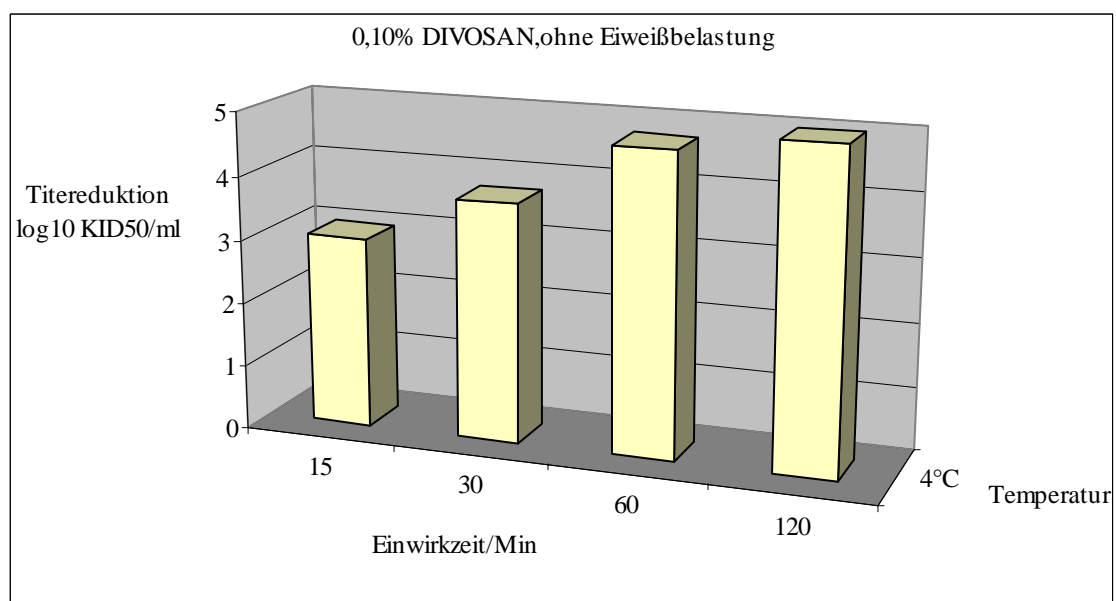


Abb.6.2.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung reduzierte die 0,1%ige Divosanlösung bei 20°C den EAV- Titer bereits nach 30 min um mind. 4 Zehnerpotenzen (Abb.6.3.).

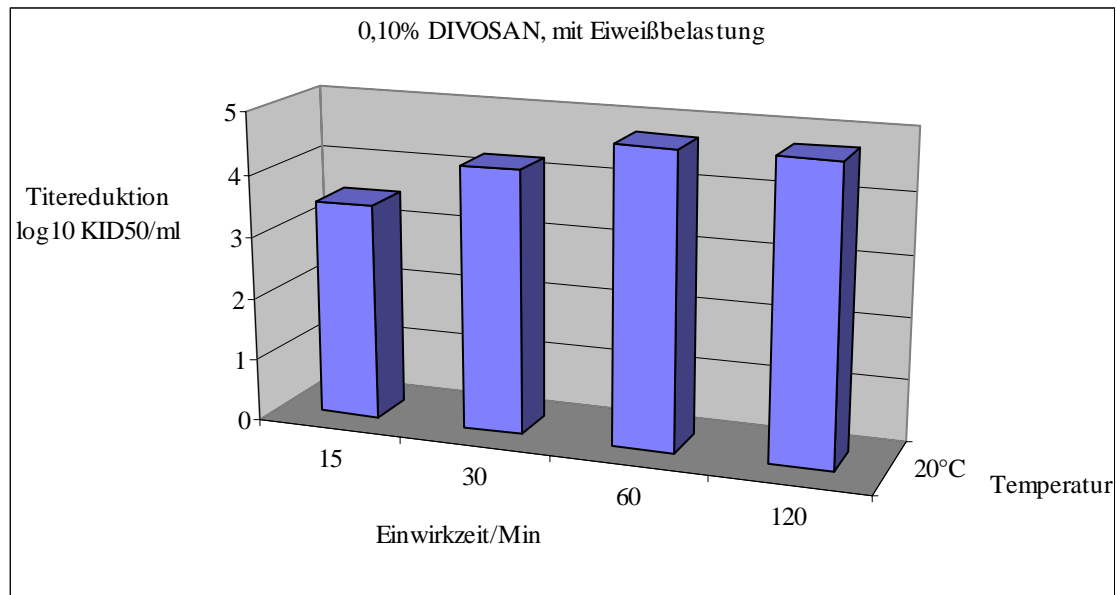


Abb.6.3.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei tieferen Temperaturen (10°C und 4°C) war für eine wirksame Desinfektion eine Erhöhung der Desinfektionsmittelkonzentration auf 0,5% erforderlich. Unter Verwendung dieser Lösung war eine Titerreduktion bis unter die Nachweisgrenze nach 30 min bei 10°C und nach 60 min bei 4°C nachweisbar (Abb.6.4.).

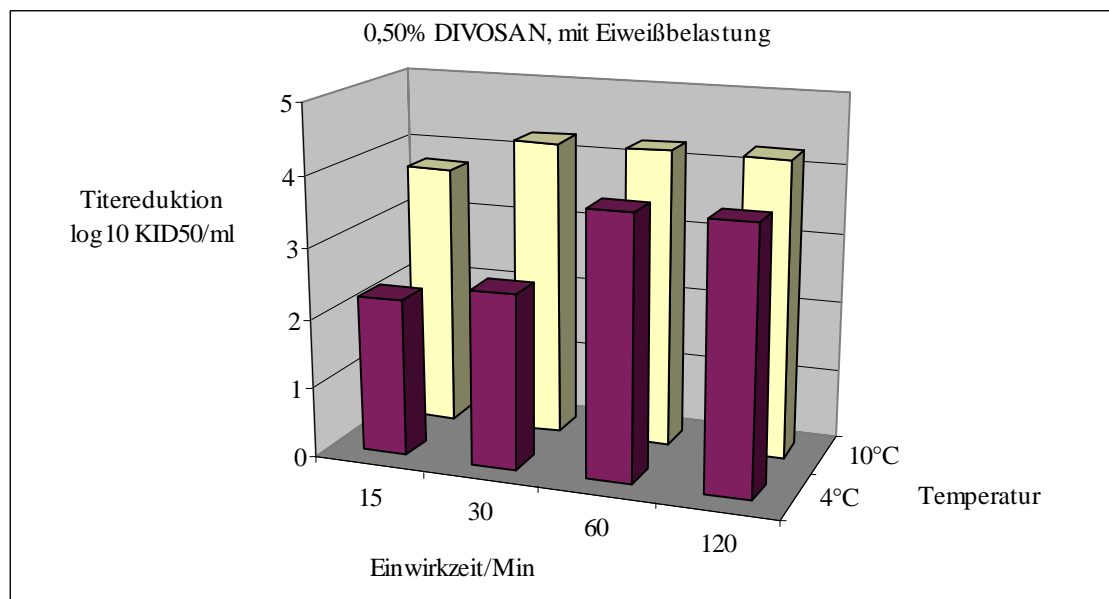


Abb.6.4.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.7. Orbivet

Die Prüfung von Orbivet als Desinfektionsmittel erbrachte im Ansatz ohne Eiweißbelastung bei Zimmertemperatur unter Verwendung einer 0,05%igen Lösung bereits nach 15 min eine Titerreduktion des EAV um mindestens 4 log₁₀-Stufen (Abb.7.1.).

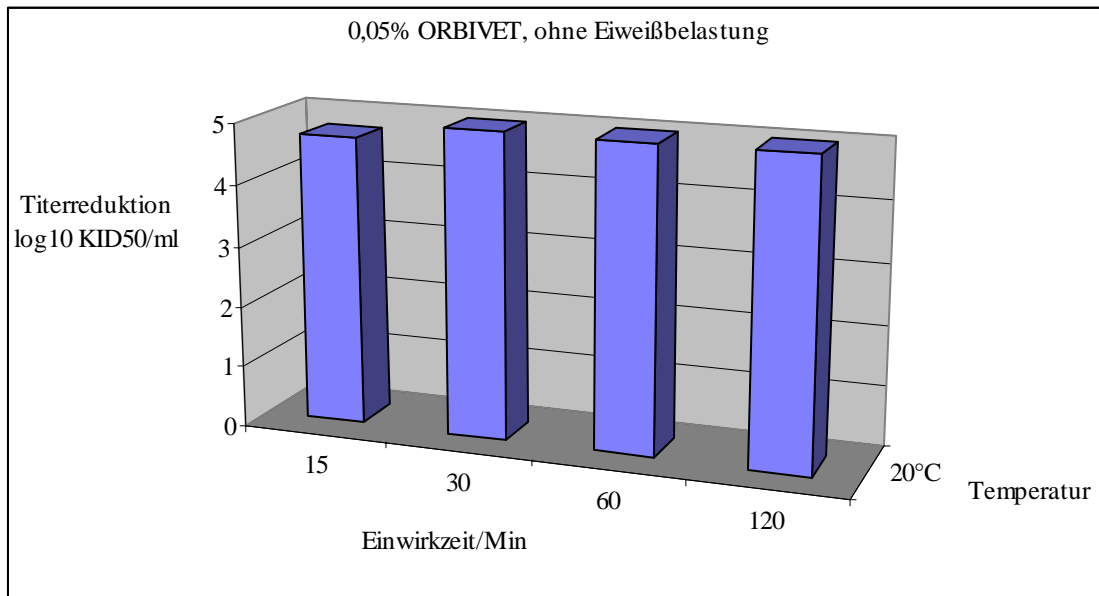


Abb.7.1.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei Temperaturen von 10°C und 4°C war für eine wirksame Desinfektion nach jeweils 30 min dagegen eine Konzentration des Desinfektionsmittels von 0,1% erforderlich (Abb.7.2.).

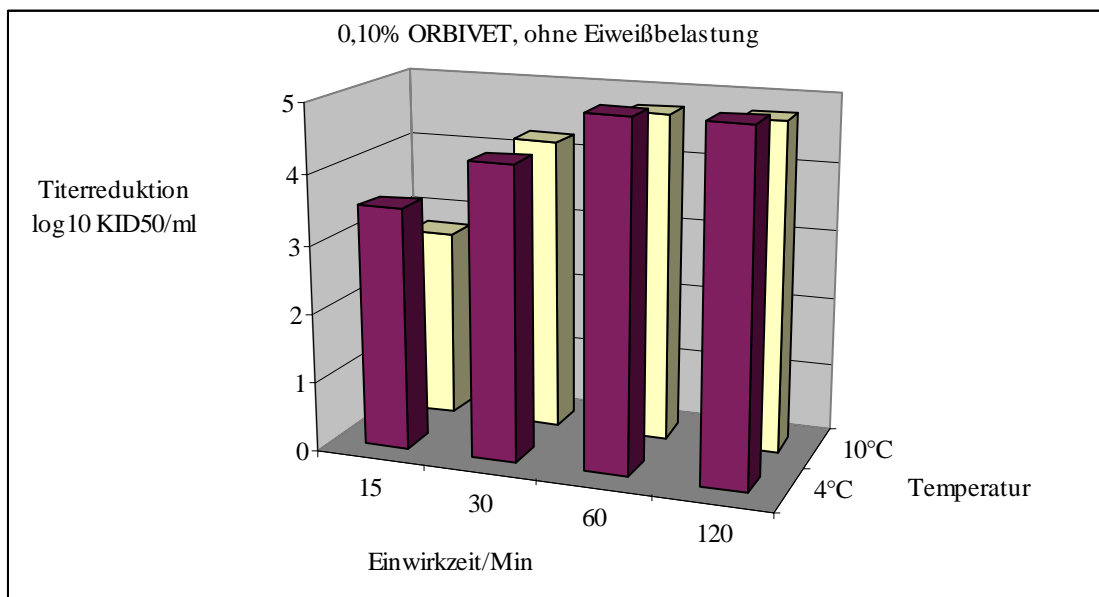


Abb.7.2.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Die bei 20°, 10° und 4°C durchgeführten Versuche zur Desinfektion des EAV unter Eiweißbelastung erbrachten erst unter Anwendung einer 0,5%igen Orbivettlösung eine ausreichende Virusinaktivierung. Wie aus der Abbildung 7.3. zu entnehmen ist, wies das Desinfektionsmittel in dieser Konzentration bei 20°C nach 15 min, bei 10°C nach 30 min und bei 4°C nach 60 min eine sichere Wirksamkeit (Reduktion des Virustiters bis unter die Nachweisgrenze) auf (Abb.7.3.). Die Differenzen in den Höhen der Titerreduktion zwischen den Versuchen bei 10°C und 20°C sind auf die unterschiedlichen Titerhöhen der Viruskontrollen zurückzuführen.

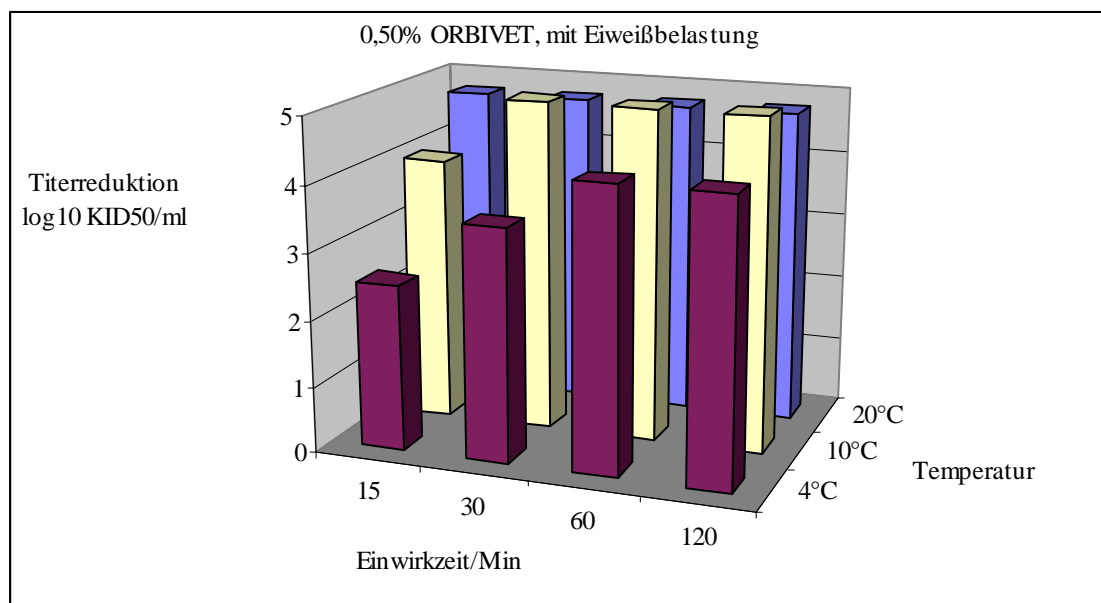


Abb.7.3.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.8. Proxitane AHC

Das Desinfektionsmittel Proxitane AHC zeigte in den Ansätzen ohne Eiweißbelastung bei den Untersuchungstemperaturen von 20°, 10° und 4°C in einer Anwendungskonzentration von 0,05% bereits innerhalb von 60 min eine ausreichende Wirksamkeit (Abb.8.1.). Die Versuche bei 4°C erlaubten jedoch nur eine Beurteilung der Titerreduktion um maximal 3,5 Zehnerpotenzen, da die bei 4°C verwendete Testvirussuspension einen geringeren Infektiositätstiter aufwies. Im Wiederholungsversuch ergab sich jedoch bei dieser Konzentration des Desinfektionsmittels eine Titerreduktion von 5,25 log- Stufen nach einer Einwirkungszeit von 60 min.

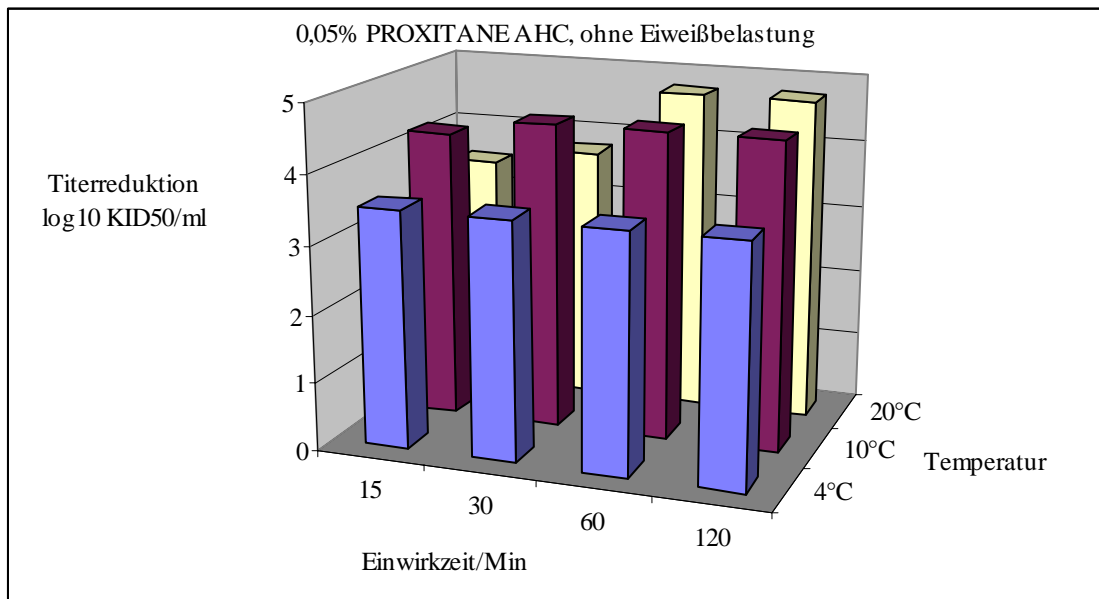


Abb.8.1.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane AHC gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei der Prüfung von Proxitane im Ansatz mit Eiweißbelastung war bei einer Temperatur von 20°C durch die 0,1%ige Desinfektionsmittellösung bereits nach 30 min eine Titerreduktion von mehr als 4 Zehnerpotenzen feststellbar (Abb.8.2.).

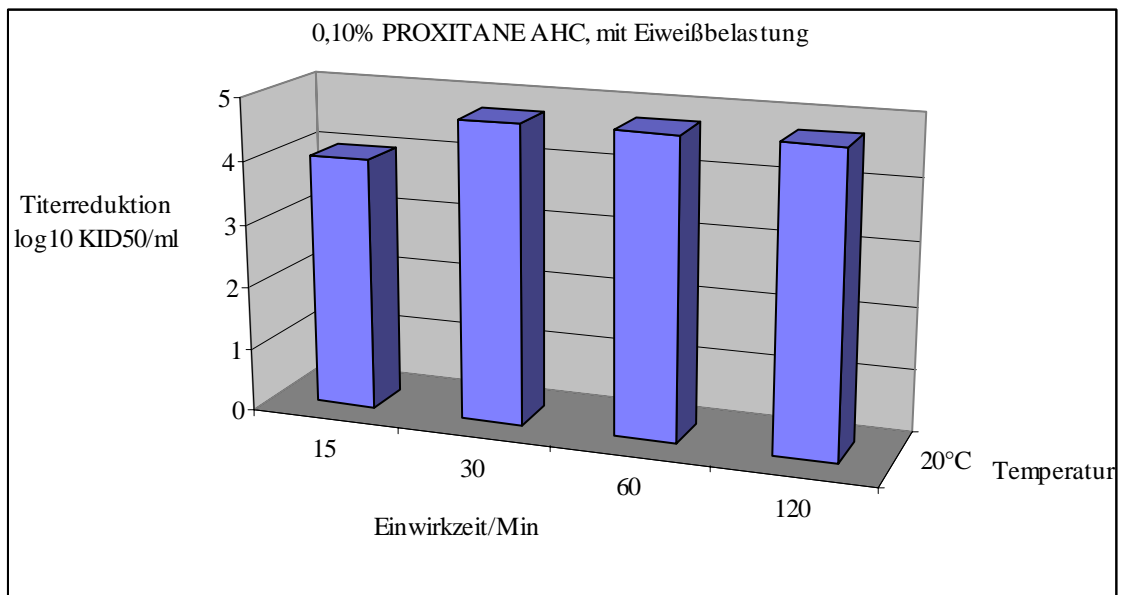


Abb.8.2.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane AHC gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Die Absenkung der Temperatur auf 10°C machte dagegen eine Erhöhung der Desinfektionsmittelkonzentration auf 0,5% erforderlich, um eine ausreichende Inaktivierung des Virus innerhalb von 60 min zu bewirken. Auffallend war, dass in den ersten 30 min kaum eine Virusinaktivierung meßbar war, innerhalb der nächsten 30 min jedoch eine steile Zunahme der Reduktionstiter eintrat (Abb.8.3.).

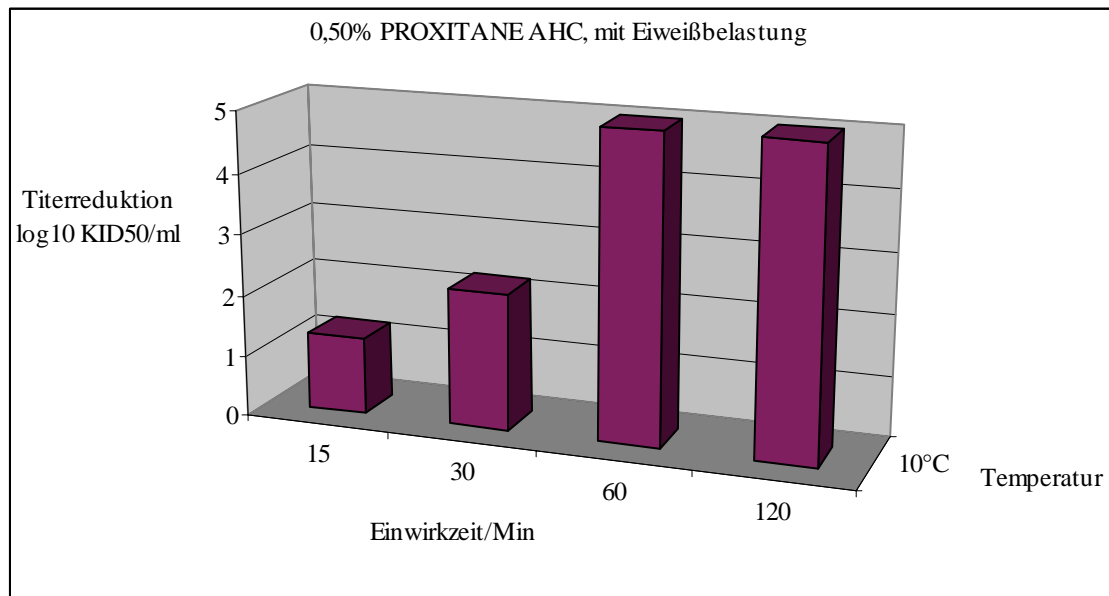


Abb.8.3.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane AHC gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei der Untersuchungstemperatur von 4°C bewirkte die 0,5%ige Lösung dagegen keine ausreichende Inaktivierung des EAV. Eine 1,0%ige Desinfektionsmittellösung reduzierte den Virustiter unter diesen Bedingungen jedoch bereits innerhalb von 15 min um mehr als 4 Zehnerpotenzen (Abb.8.4.).

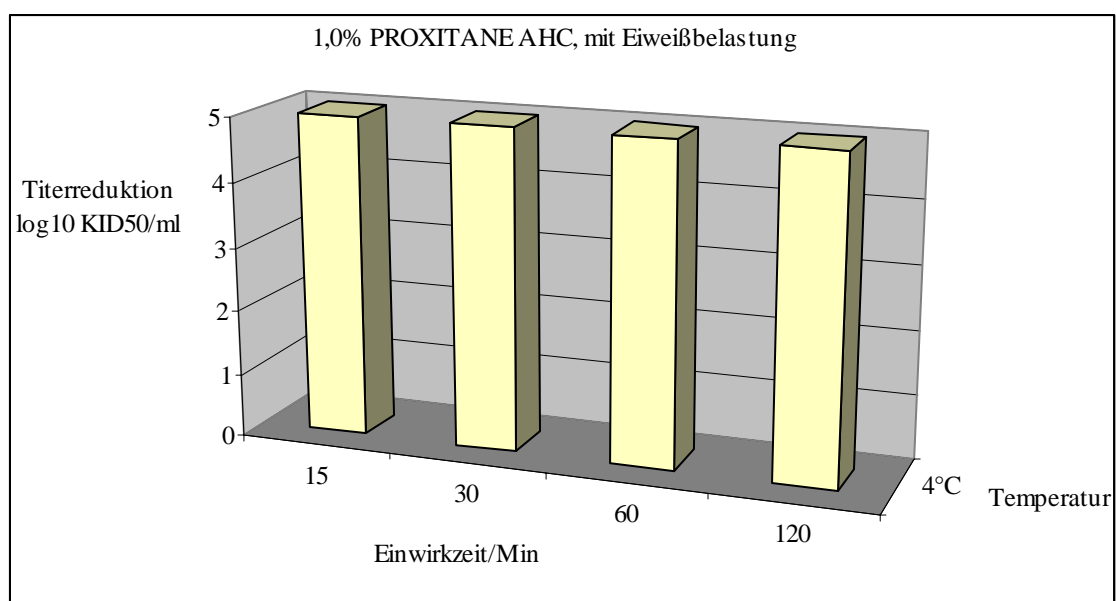


Abb.8.4.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane AHC gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.9. Venno Vet 1 Super

Bei der Untersuchung des Desinfektionsmittels Venno Vet 1 Super induzierte eine 0,01%ige Lösung im Ansatz ohne Eiweißbelastung bei einer Temperatur von 20°C nach einer Einwirkzeit von 60 min eine Reduktion des EAV- Titors um mehr als 4 log₁₀- Stufen. Bei Erniedrigung der Temperatur auf 10°C war für eine vergleichbare Wirksamkeit eine Einwirkungszeit von 120 min erforderlich (Abb.9.1.).

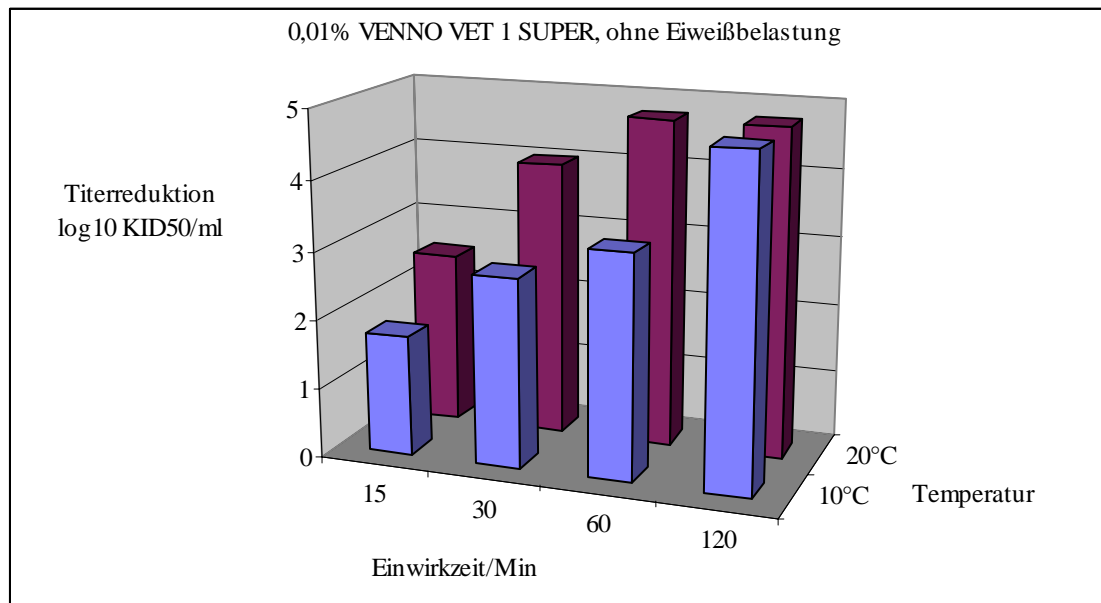


Abb.9.1.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei weiterer Absenkung der Temperatur (4°C) war im Ansatz ohne Eiweiß dagegen eine 5-fach höhere Desinfektionslösung (0,05%) erforderlich, um eine ausreichende Titerreduktion zu erzielen. Venno Vet 1 Super bewirkte in dieser Konzentration nach 15 min eine Inaktivierung des Virus bis unter die Nachweisgrenze (Abb.9.2.).

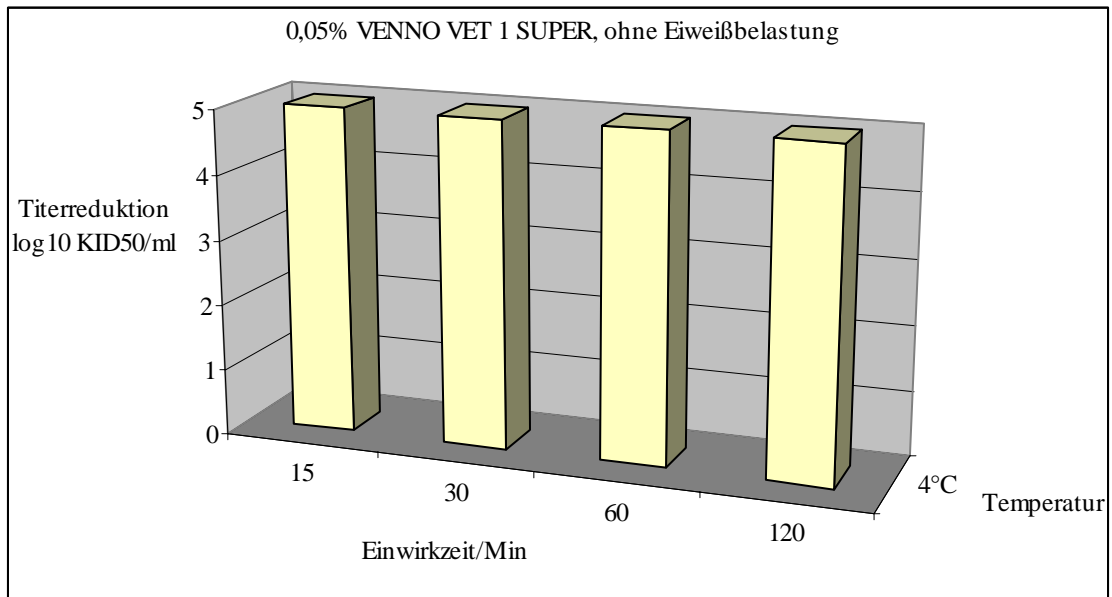


Abb.9.2.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung waren für eine wirksame Desinfektion des EAV sowohl bei 20°C als auch bei 10°C und 4°C noch höhere Konzentrationen erforderlich als in den Versuchen ohne Eiweißbelastung bei 4°C. Bei 20°C erfolgte unter Verwendung von 0,1%igem Venno Vet 1 Super innerhalb von 30 min (Abb.9.3.) und bei 10°C und 4°C mit 0,5% des Desinfektionsmittels innerhalb von 15 min bzw. 30 min eine ausreichende Virusinaktivierung (Abb.9.4.).

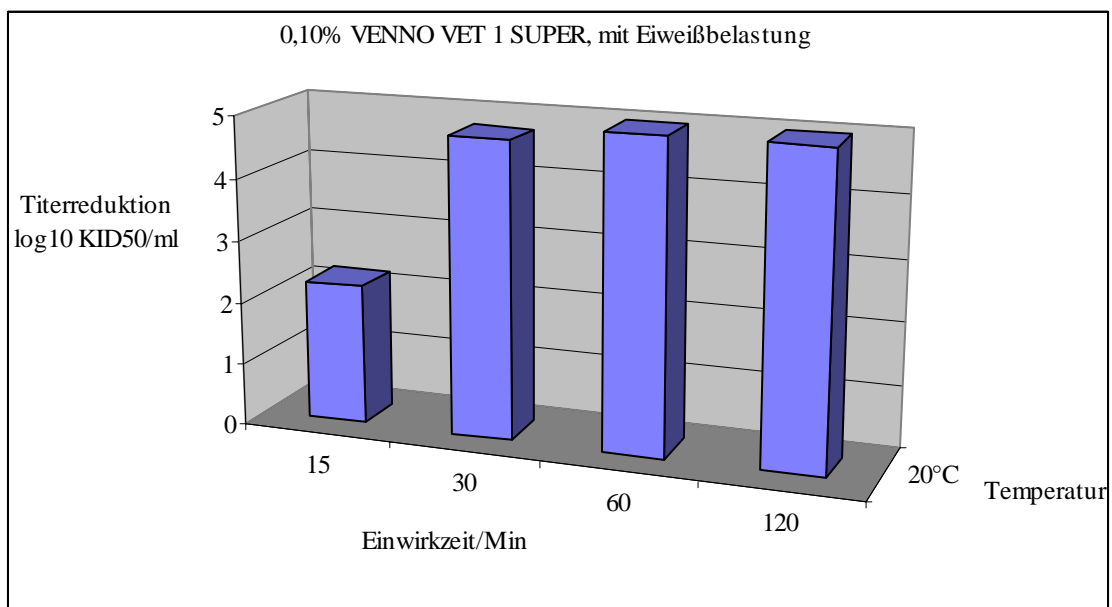


Abb.9.3.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber EAV im Suspensionsversuch

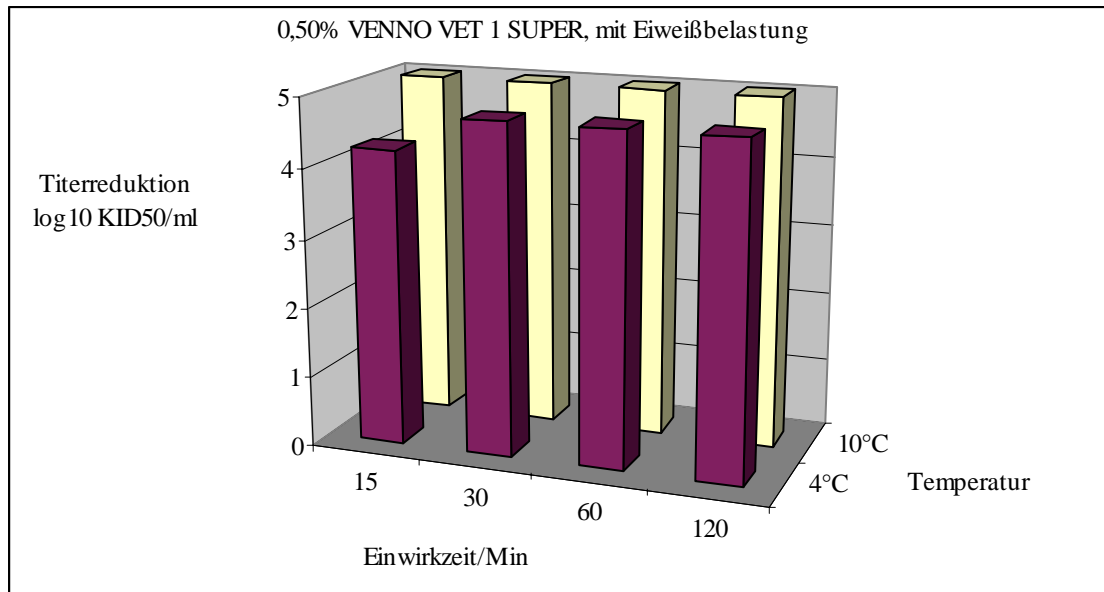


Abb.9.4.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.1.10. Halamid

Wie aus Abb.10.1.ersichtlich, war mit Halamid als Desinfektionsmittel in einer Konzentration von 0,05% bei allen drei Temperaturen (20°, 10° und 4°C) eine wirksame Desinfektion des EAV möglich. Mit abnehmender Temperatur verlängerten sich die für die Virusinaktivierung erforderlichen Einwirkungszeiten von 15 min über 30 min auf 60 min.

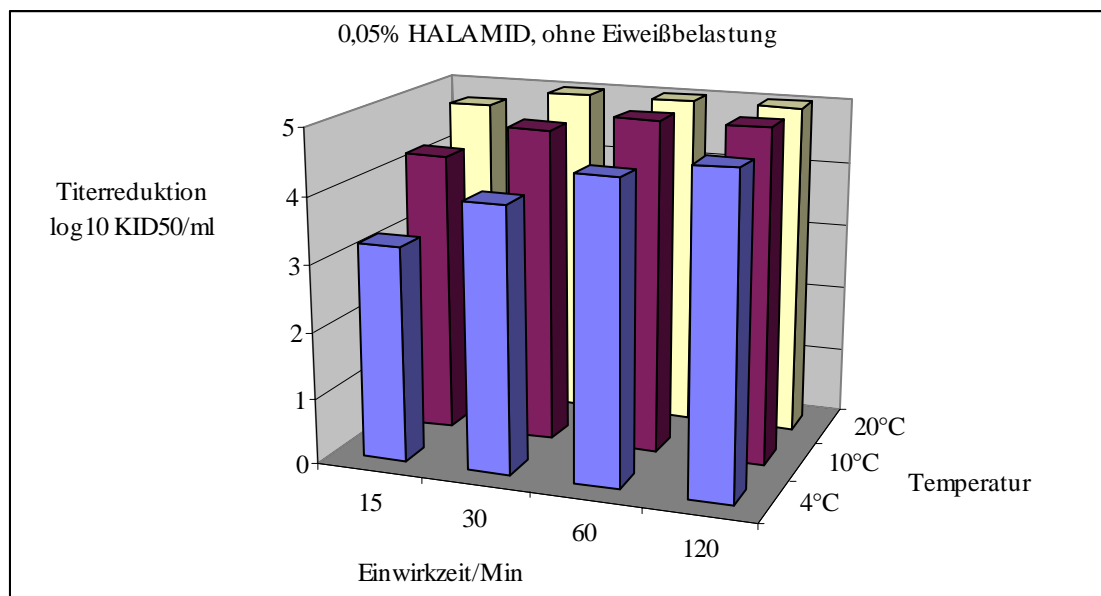


Abb.10.1.: Viruzide Wirksamkeit von Halamid gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Bei den unter Eiweißbelastung durchgeführten Versuchen war zur Erzielung ausreichend hoher Titerreduktionen bei 20°C und 10°C eine um den Faktor 10 höhere Desinfektionsmittelkonzentration (0,5%) erforderlich. Wie aus Abb. 10.2 zu entnehmen ist, war mit dieser Lösung bei 20°C nach 60 min und bei 10°C nach 120 min der EAV- Titer um 4 Zehnerpotenzen reduziert.

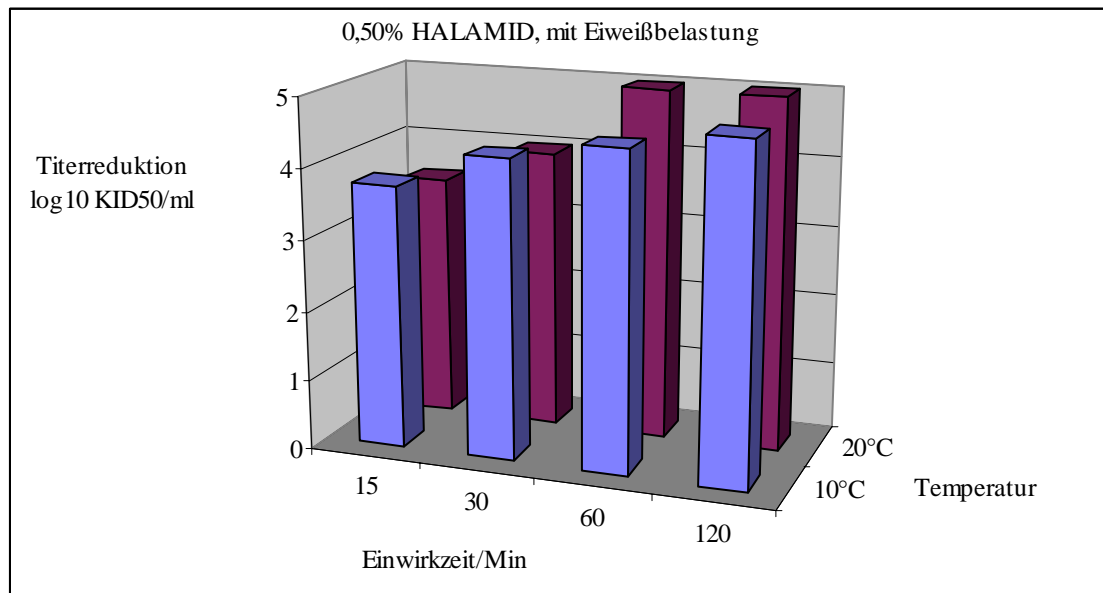


Abb.10.2.: Viruzide Wirksamkeit von Halamid gegenüber EAV im Suspensionsversuch

Eine sichere Desinfektion erfolgte bei 4°C dagegen erst nach einer weiteren Erhöhung der Konzentration von Halamid mit 1,0% der Desinfektionsmittel war nach 30 min eine Titerreduktion von mehr als 4 Zehnerpotenzen vorhanden war. Nach 15 minütiger Einwirkungszeit war jedoch schon einer Titerreduktion von 3,5 Zehnerpotenzen nachweisbar (Abb.10.3.).

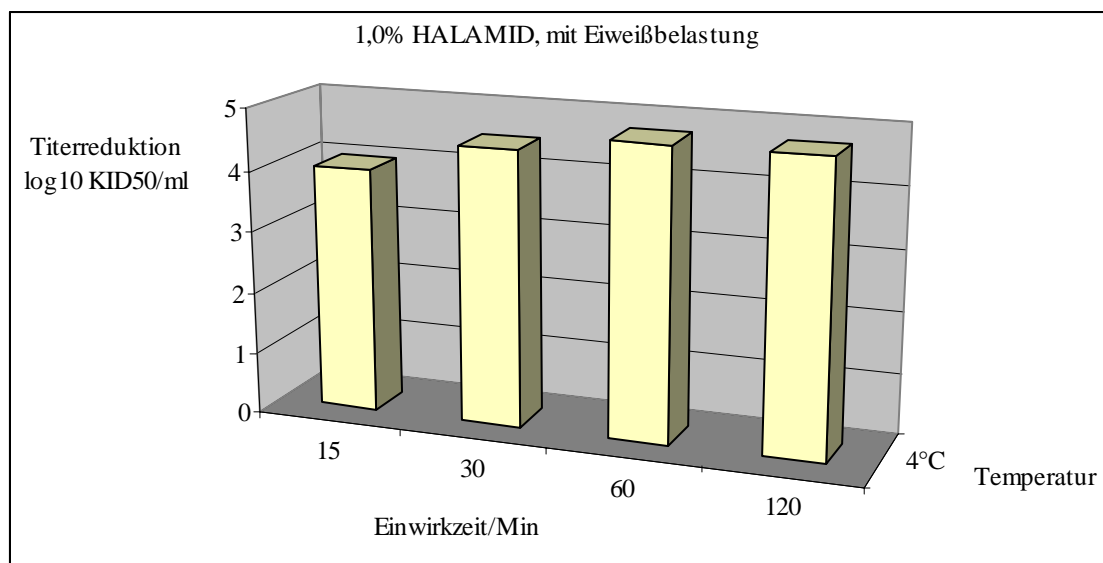


Abb.10.3.:viruzide Wirksamkeit von Halamid gegenüber EAV im Suspensionsversuch

3.2.2.2. Viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel unter Verwendung von ECBO als Testvirus

3.2.2.2.1. Formaldehyd

Die unter Verwendung von ECBO- Virus als Testorganismus durchgeführten Versuche mit Formaldehyd erbrachten fast übereinstimmende Ergebnisse zu den Versuchen mit EAV als Testvirus. Im Ansatz ohne Eiweißbelastung reduzierte eine 0,5%ige Formaldehydlösung innerhalb von 60 Minuten bei einer Temperatur von 20°C den ECBO- Virustiter um mehr als 4 Zehnerpotenzen (Abb.11.1.).

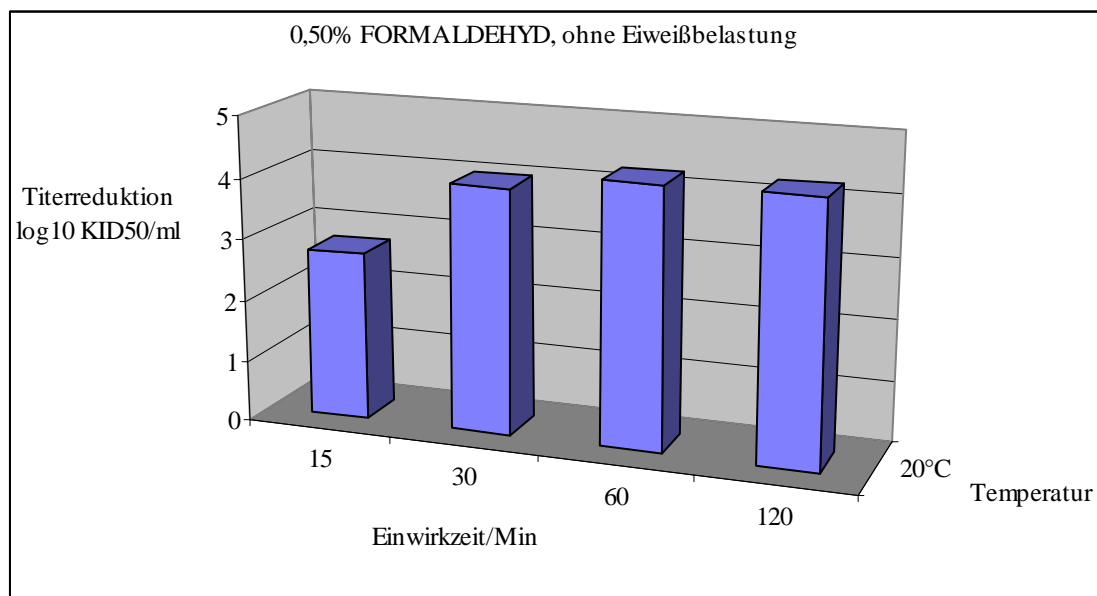


Abb.11.1.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO-Virus im Suspensionsversuch

Für eine bei einer Temperatur von 10°C entsprechend hohe Titerreduktion mußte die Desinfektionsmittelkonzentration auf 1,0% erhöht und die Einwirkzeit auf 120 Minuten verlängert werden (Abb11.2.).

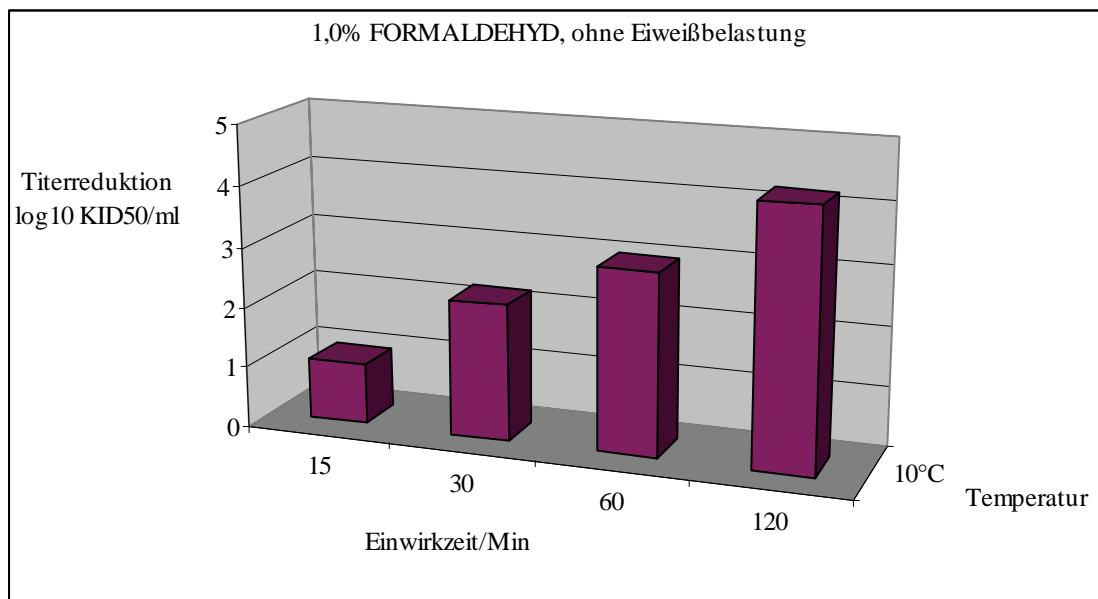


Abb.11.2.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei 4°C war dagegen eine 3%ige Desinfektionsmittellösung über eine Einwirkungszeit von 120 min erforderlich. Wegen der Toxizität der 3%igen Formaldehydlösung war jedoch eine Beurteilung der Inaktivierung lediglich über maximal 3 Zehnerpotenzen möglich (Abb.11.3.).

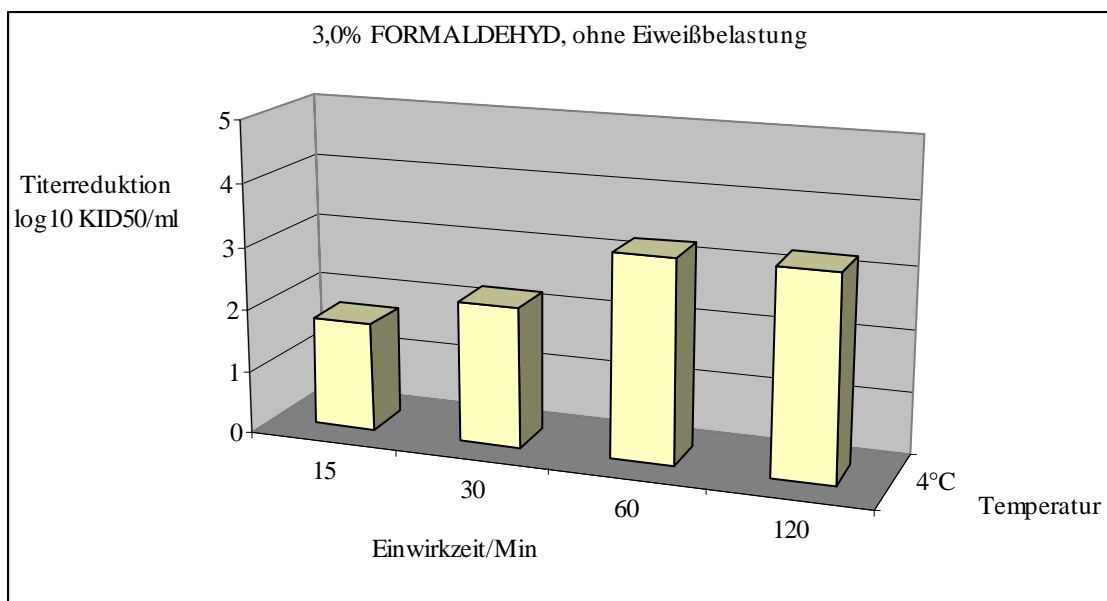


Abb.11.3.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die Untersuchungen unter Eiweißbelastung zeigten, dass zur Desinfektion bei 20°C eine 0,5%ige Formaldehydlösung und eine Einwirkungszeit von 60 min erforderlich waren. Wegen zu niedriger Viruskontrollen konnte jedoch nur eine Inaktivierung über maximal 3,25 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Abb.11.4.).

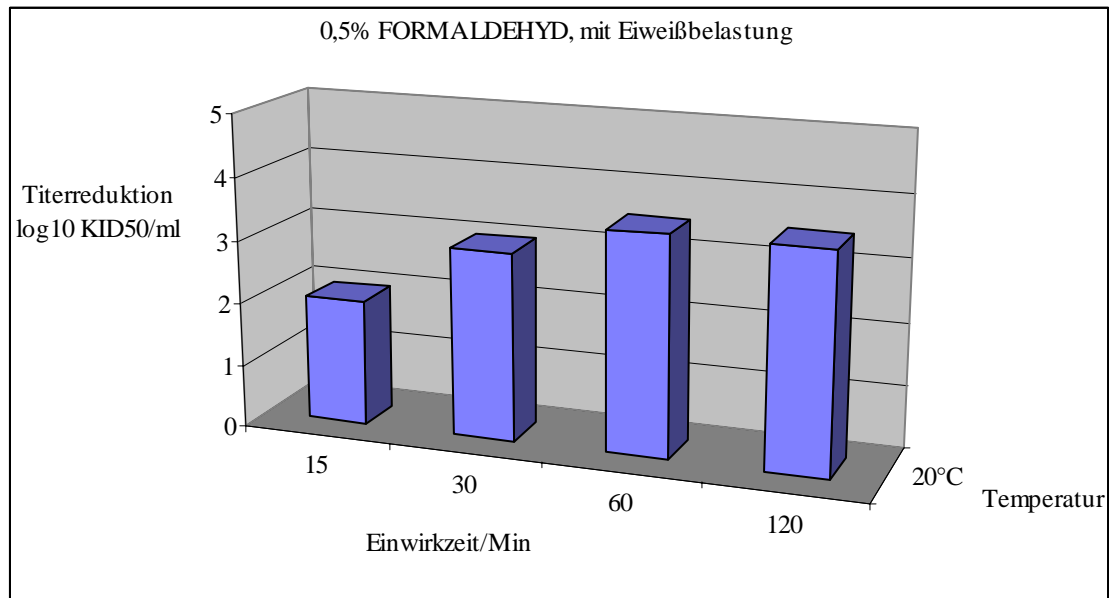


Abb.11.4.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO-Virus im Suspensionsversuch

Für die Desinfektion bei 10°C unter Eiweißbelastung war eine Erhöhung der Konzentration des Formaldehyds auf 2,0% notwendig. Auch bei diesem Versuch wurden wegen der zu niedrigen Infektiositätstiter der Viruskontrolle nicht ausreichend hohe Titerreduktionen erreicht (Abb.11.5.).

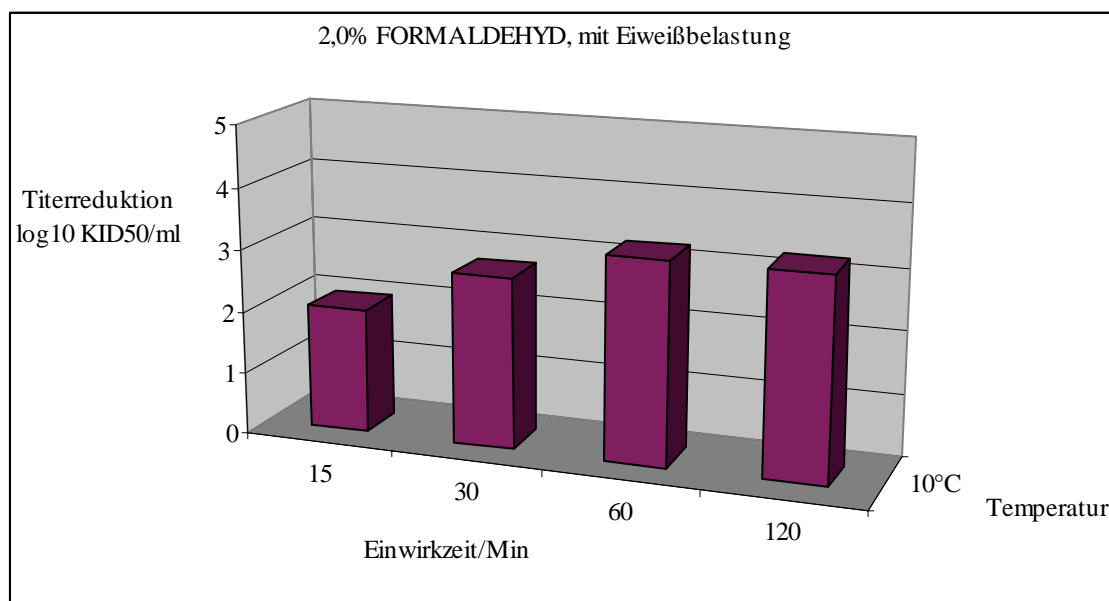


Abb.11.5.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die Desinfektion bei 4°C unter Eiweißbelastung erforderte eine 3,0%ige Desinfektionsmittellösung bei einer Einwirkzeit von 120 min. Aufgrund der hohen Zytotoxizität des Formaldehyds konnte in diesem Fall lediglich eine Titerreduktion von 3 Zehnerpotenzen beurteilt werden (Abb.11.6.).

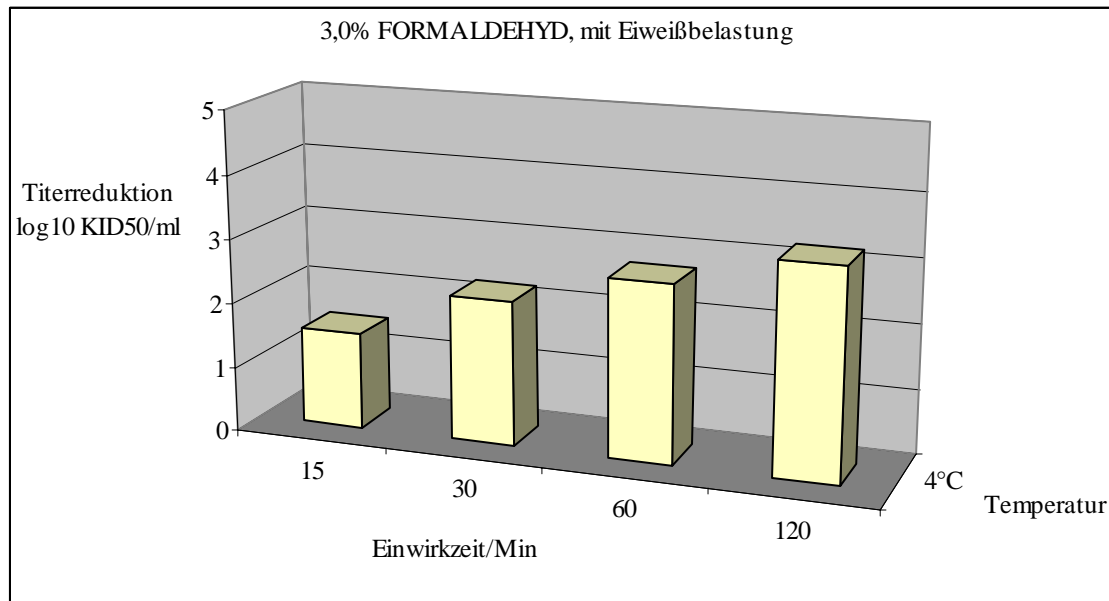


Abb.11.6.: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd gegenüber ECBO-Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.2. Natriumhypochlorit

Eine ausreichende Inaktivierung von ECBO-Virus durch Natriumhypochlorit war bei einer

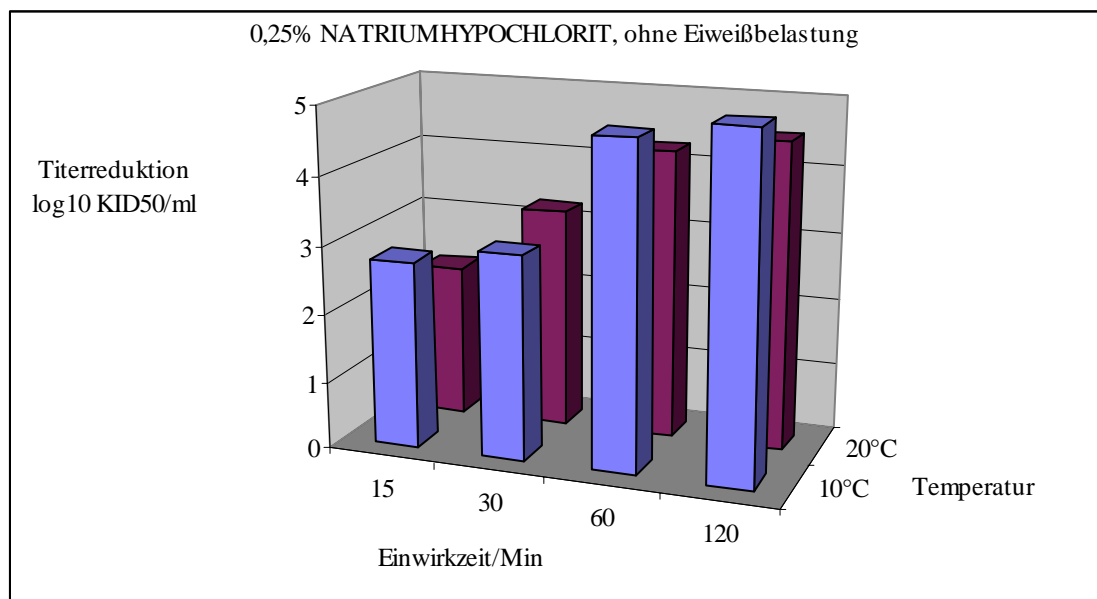


Abb.12.1.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber ECBO-Virus im Suspensionsversuch

Temperatur von 20°C und 10°C mit einer 0,25%igen Desinfektionsmittellösung im Ansatz ohne Eiweißbelastung nach einer Einwirkungszeit von 60 min erreicht (Abb.12.1.). Bei 4°C war dagegen eine 4-fach höhere Natriumhypochloritlösung (1,0% für 30 min) gegenüber den Ansätzen bei 20°C und 10°C notwendig, um eine ausreichend hohe Reduktion des ECBO- Virustiters zu induzieren (Abb.12.2.).

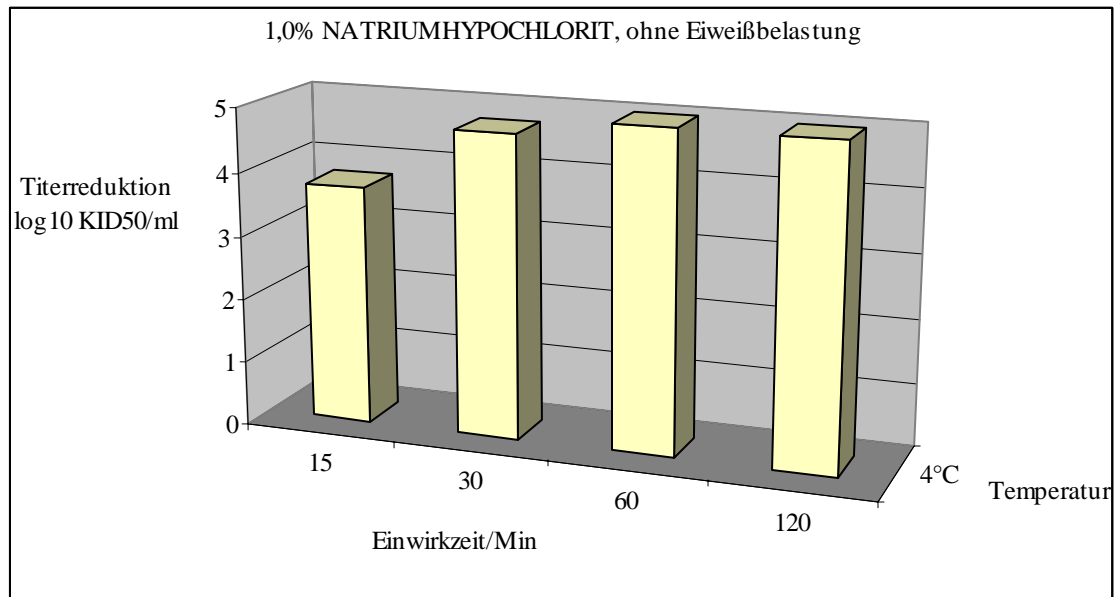


Abb.12.2.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung reduzierte bei 20°C eine 1%ige Natriumhypochloritlösung nach einer Einwirkungszeit von 120 min das ECBO- Virus in seiner Infektiosität um mehr als 4 Titerstufen (Abb.12.3.).

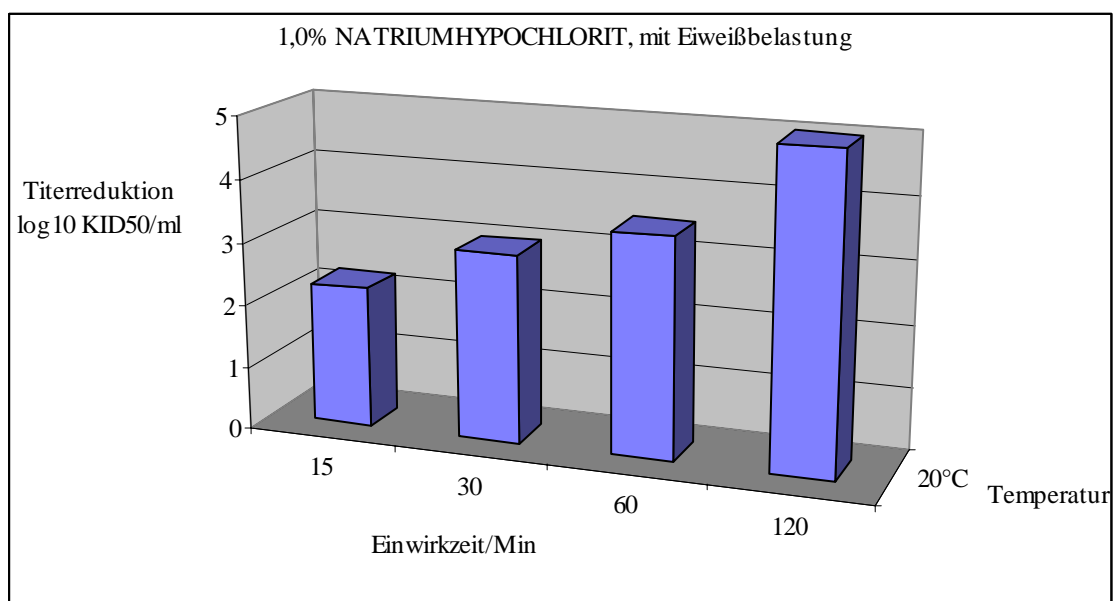


Abb.12.3.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Für die bei 10°C durchgeführten Versuchen war eine Erhöhung der Konzentration auf 2,0% erforderlich, um entsprechende Titerreduktionen nach 120 min zu erzielen (Abb.12.4.).

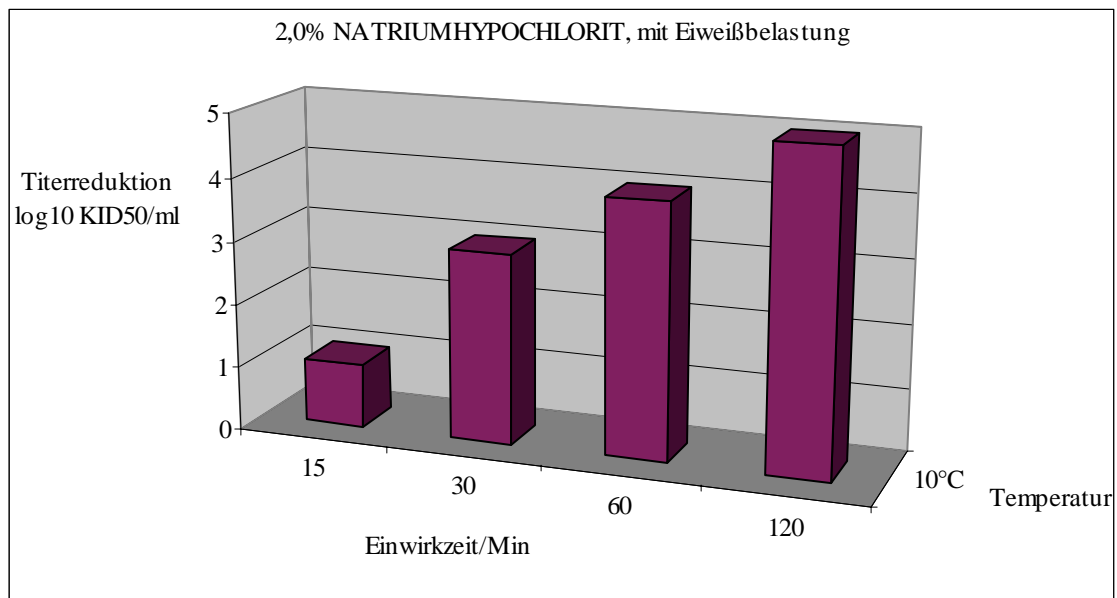


Abb.12.4.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Im Desinfektionsansatz bei 4°C führte dagegen auch eine 5,0%ige Natriumhypochloritlösung innerhalb eines Zeitraums von 120 min nicht zu einer ausreichenden Titerreduktion (Abb.12.5.). Höhere Konzentrationen wurden wegen der Zytotoxizität der Lösungen nicht eingesetzt.

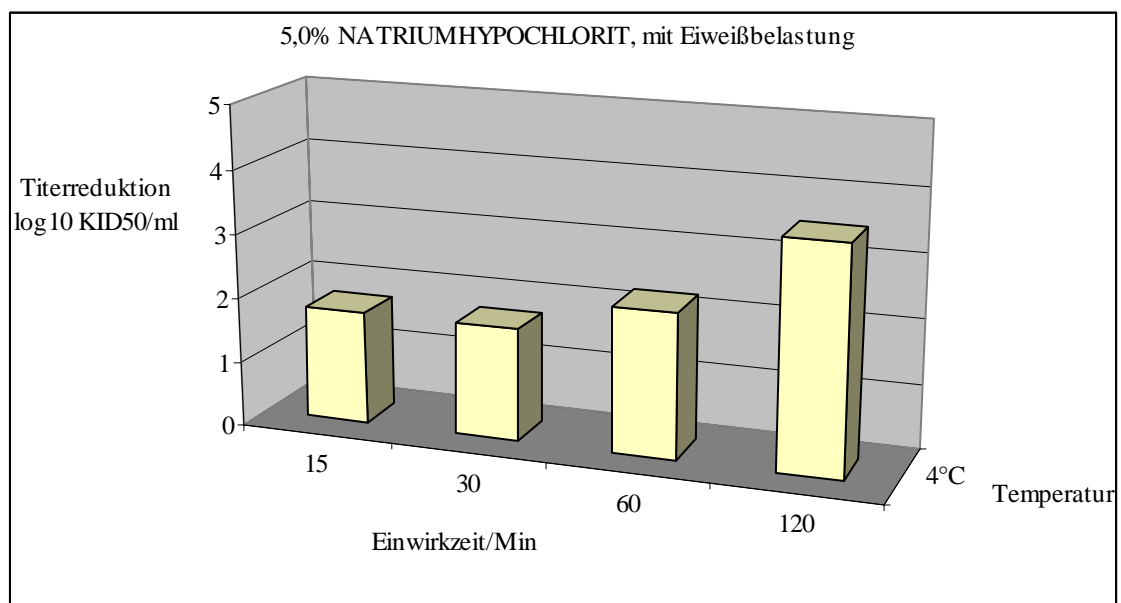


Abb.12.5.: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.3. Ameisensäure

Die bei 20°, 10° und 4°C durchgeführten Versuche zur Desinfektion des ECBO- Virus brachten im Ansatz ohne Eiweißbelastung eine ausreichende Desinfektion unter Verwendung einer 0,5%igen Ameisensäurelösung. Wie aus der Abbildung zu entnehmen ist, verlängerten sich mit Abnahme der Temperatur lediglich die benötigten Einwirkzeiten (Abb.13.1.). Die 0,5%ige Lösung war bei 20°C nach 15 min, bei 10°C nach 60 min und bei 4°C nach 120 min wirksam.

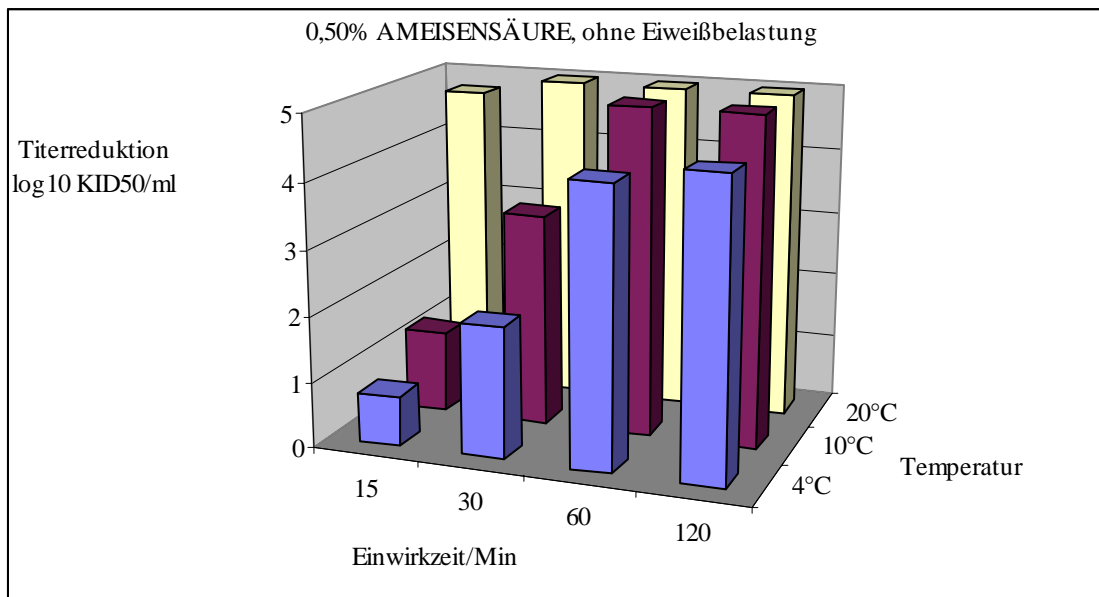


Abb.13.1.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Auch unter Eiweißbelastung erwies sich die 0,5%ige Ameisensäurelösung innerhalb von 60 min als wirksam, jedoch nur bei 20°C (Abb.13.2.).

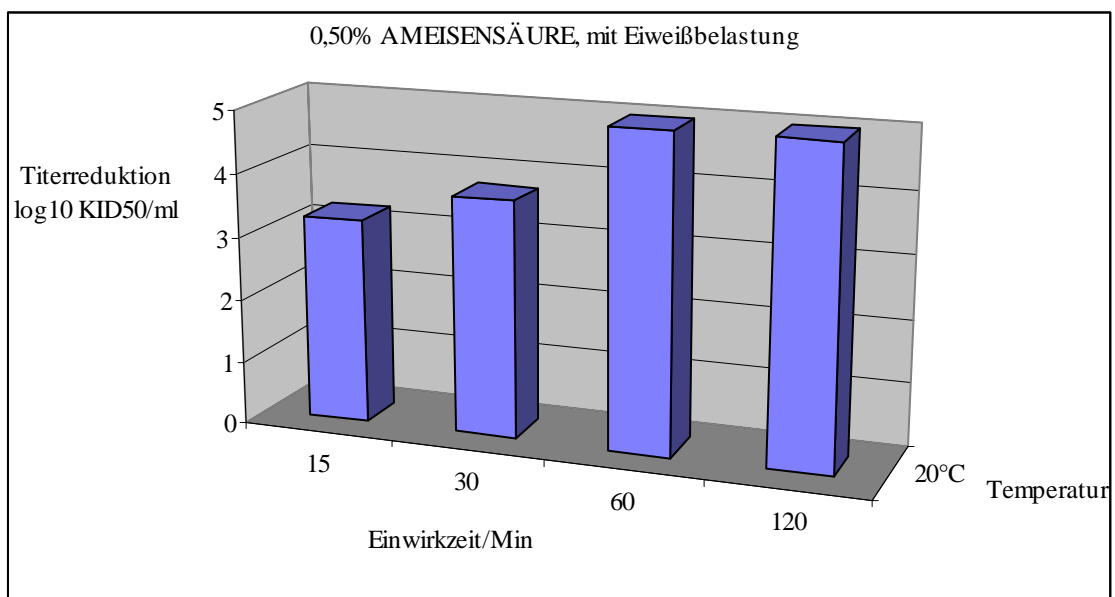


Abb.13.2.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Für eine wirksame Desinfektion bei 10°C und 4°C war jedoch eine höhere Konzentration (1,0%) der Ameisensäure erforderlich. Innerhalb von 60 min kam es zu einer Reduktion des ECBO- Virustiters um mehr als 4 Zehnerpotenzen. Auffällig waren die fast übereinstimmenden Inaktivierungskinetiken bei 4°C und 10°C (Abb.13.3.).

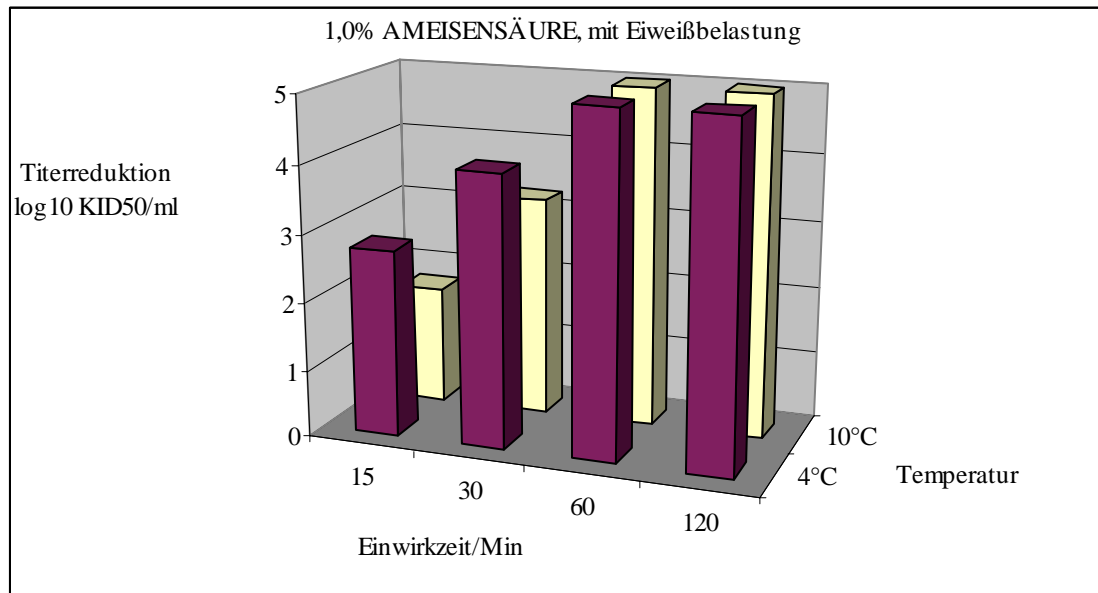


Abb.13.3.: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.4. Peressigsäure

Unter Verwendung von Peressigsäure als Desinfektionsmittel konnte mit einer 0,01%igen Lösung das ECBO- Virus im Ansatz ohne Eiweißbelastung bei den Temperaturen von 20°, 10° und 4°C inaktiviert werden.

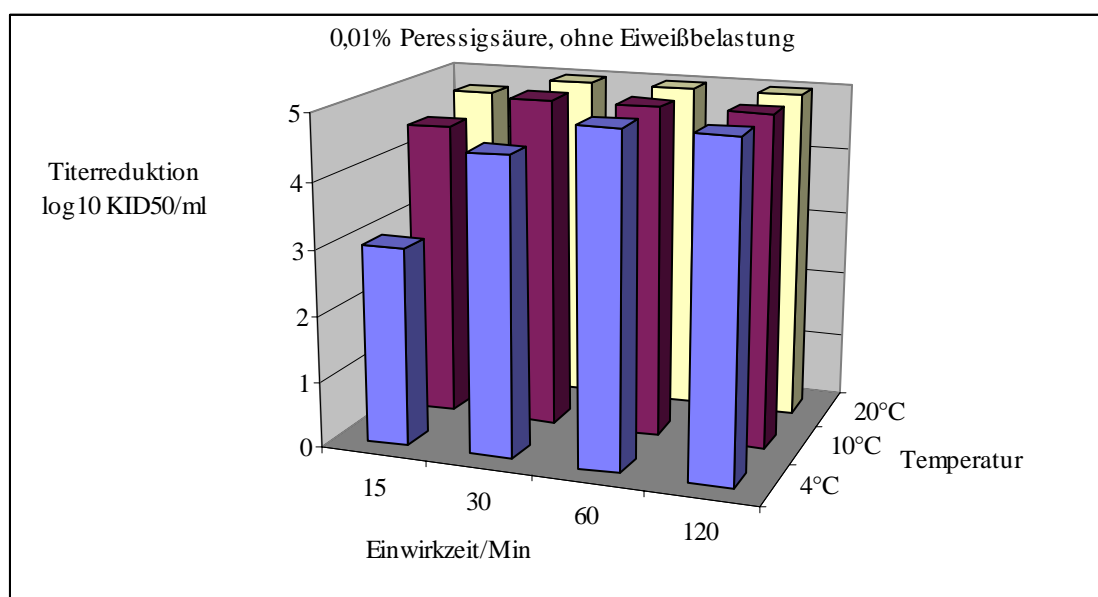


Abb.14.1.: Viruzide Wirksamkeit von Peressigsäure gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Mit Abnahme der Temperatur verlängerte sich jedoch die Einwirkungszeit von 30 min bei 20° und 10°C auf 60 min bei 4°C (Abb.14.1.).

Auch bei der Prüfung unter Eiweißbelastung erbrachte die 0,01%ige Peressigsäurelösung bei allen drei untersuchten Temperaturen eine ausreichende Virusinaktivierung. Das Desinfektionsmittel war nach 120 min bei 20°, 10° und 4°C gegenüber dem ECBO- Virus ausreichend wirksam. Wie aus der Abbildung zu entnehmen ist, kam es mit Abnahme der Temperatur nur zu minimalen Wirkungsbeeinträchtigungen (Abb.14.2.).

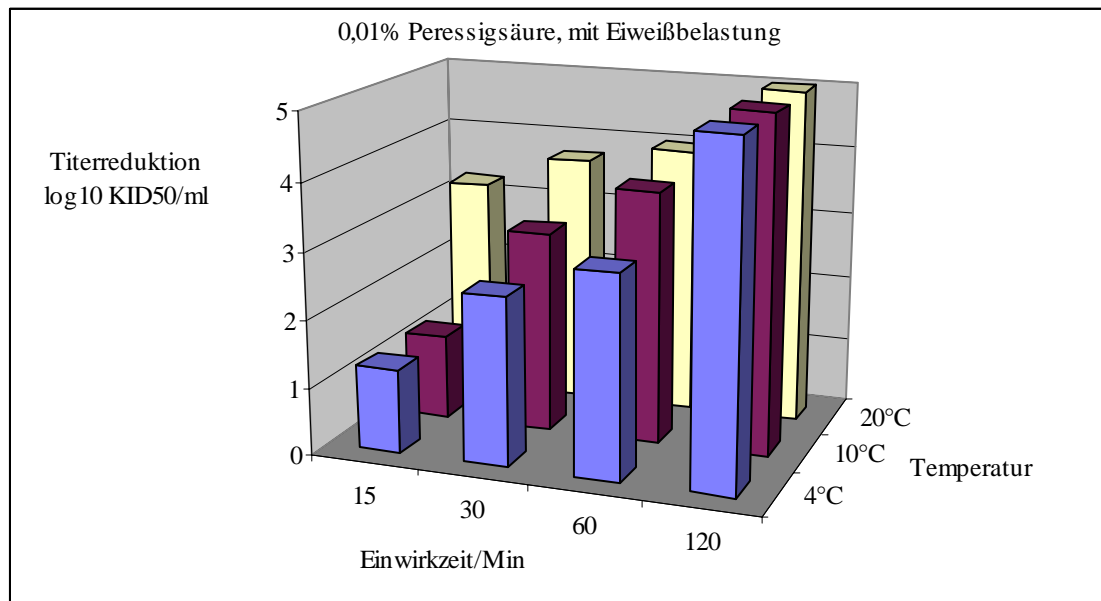


Abb.14.2.: Viruzide Wirksamkeit von Peressigsäure gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.5. Aldekol-Des-02

Bei Einsatz von Aldekol-Des-02 als Desinfektionsmittel gegenüber dem ECBO- Virus erwies sich eine 0,5%ige Lösung innerhalb von 30 min bei 20°C im Ansatz ohne Eiweißbelastung als ausreichend wirksam (Abb.15.1.).

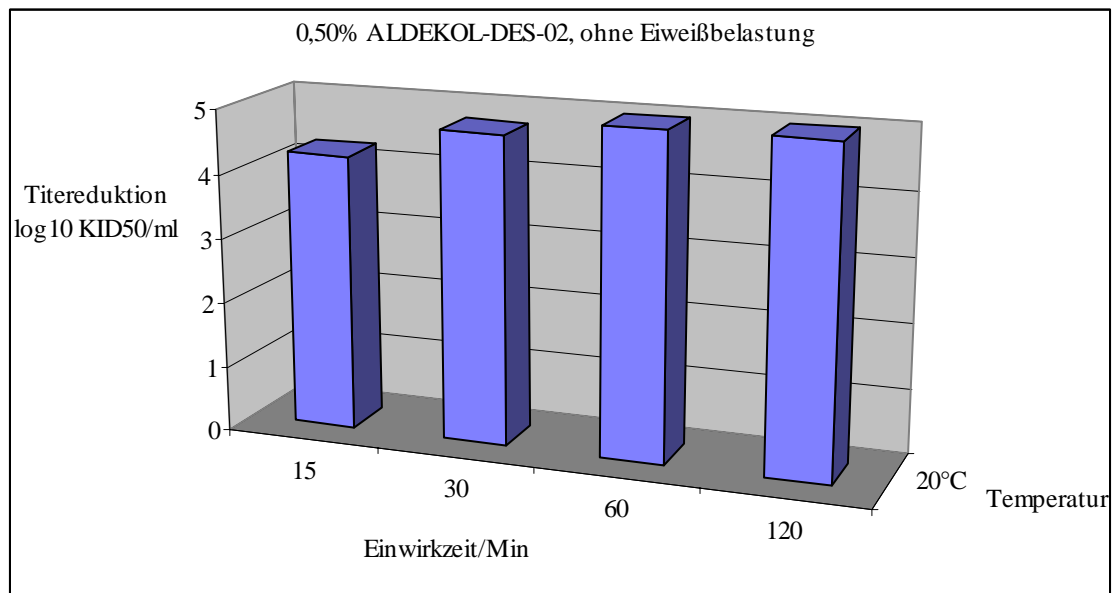


Abb.15.1.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die bei Temperaturen von 10°C und 4°C durchgeführten Versuche ohne Eiweißbelastung erforderten dagegen eine Erhöhung der Konzentration auf 1,0%. Diese Desinfektionsmittelkonzentration bewirkte jedoch schon bereits nach 15 min einen deutlichen viruziden Effekt. Wegen der Zytotoxizität von Aldekol-Des-02 waren jedoch nur maximale Titerreduktionen in Höhe von 3,25 Zehnerpotenzen nachweisbar (Abb.15.2.).

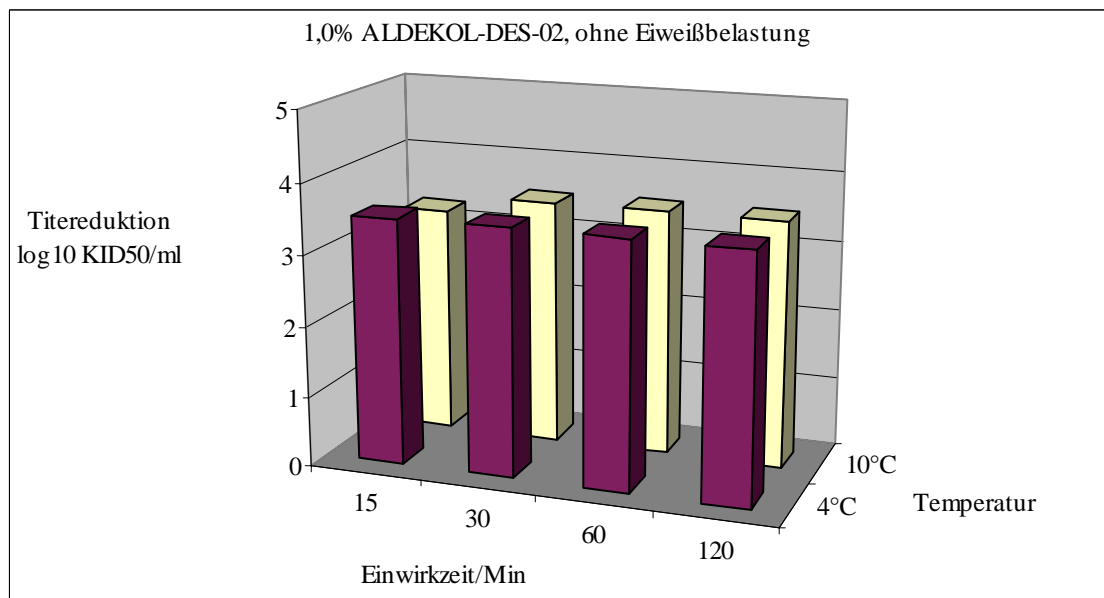


Abb.15.2.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die gleiche Problematik trifft für die unter Eiweißbelastung durchgeführten Versuche zu (maximal nachweisbare Titerreduktion von 3,25 Zehnerpotenzen). Bei Zimmertemperatur war eine 1,0%ige Desinfektionslösung notwendig, um nach 30 min kein infektiöses Agens mehr zu finden (Abb.15.3.). Dennoch ist eindeutig ersichtlich, dass mit Abnahme der Temperatur von 20°C über 10°C auf 4°C zunehmend höhere Konzentrationen und längere Einwirkungszeiten für eine viruzide Wirksamkeit (Titerreduktion um 3,25 Zehnerpotenzen) erforderlich waren. Bei 20°C wirkte Aldekol-Des-02 in einer Konzentration von 1% innerhalb von 30 min, bei 10°C wirkte 2%iges Aldekol-Des-02 innerhalb von 30 min und bei 4°C war eine 6%ige Lösung des Desinfektionsmittels für einen Zeitraum von 60 min erforderlich (Abb.15.3., 15.4., 15.5.).

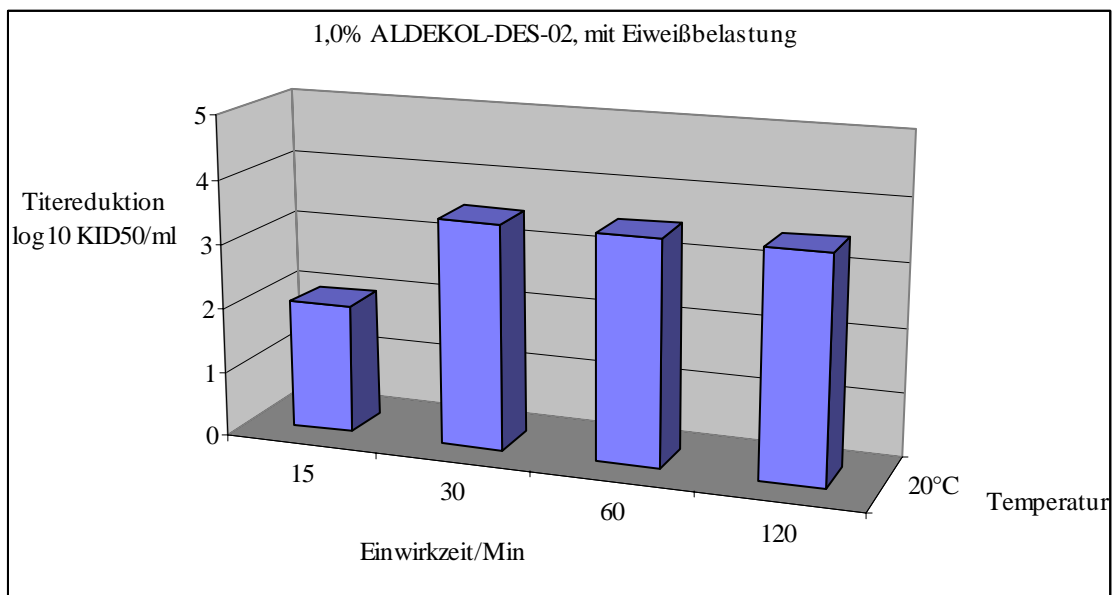


Abb.15.3.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

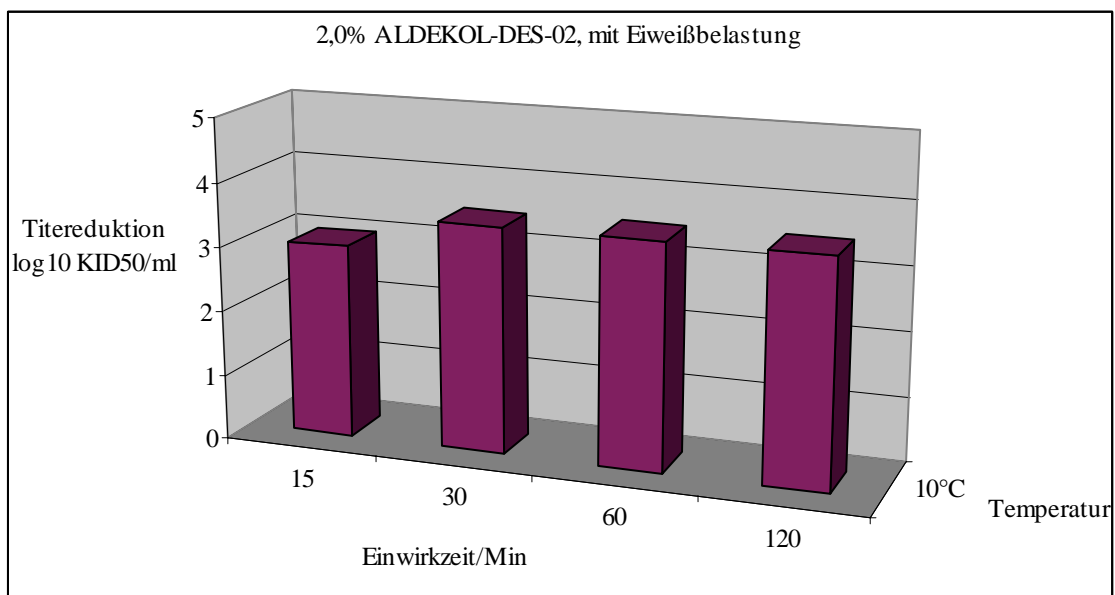


Abb.15.4.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol- Des- 02 gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

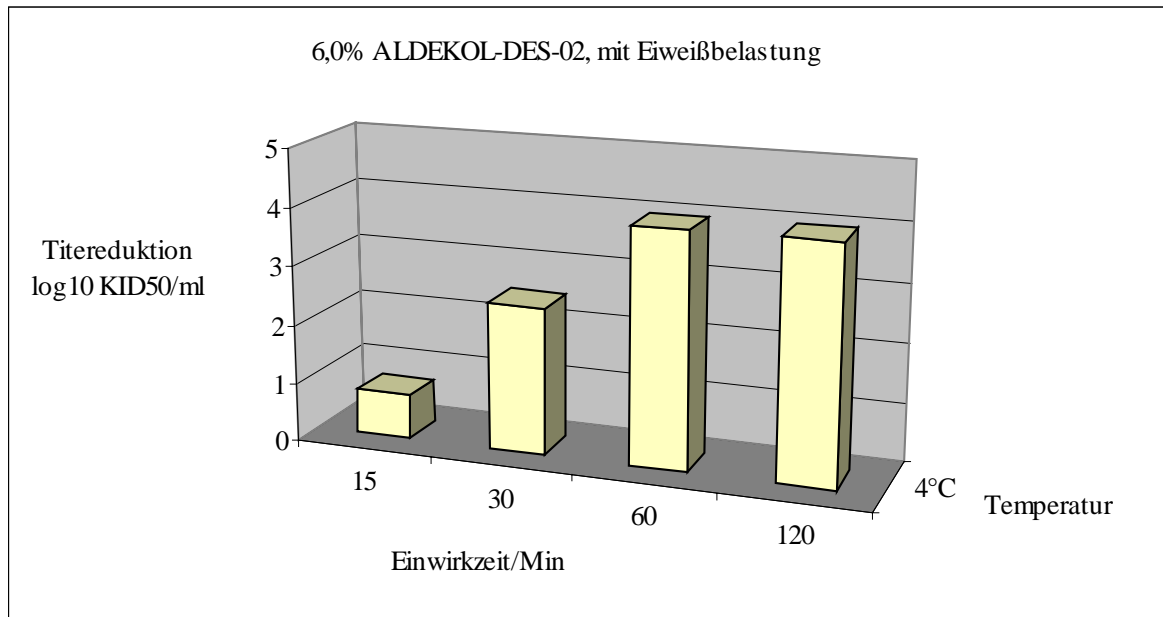


Abb.15.5.: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.6. Divosan SD

Das Desinfektionsmittel Divosan führte in einer Konzentration von 0,5% im Ansatz ohne Eiweißbelastung bei einer Temperatur von 20°C innerhalb von 30 min zu einer Reduktion des ECBO- Virustiters bis unter die Nachweisgrenze. Dies entsprach einer Titerreduktion von 3,5 Zehnerpotenzen. Wegen des niedrigen Titers der Viruskontrolle waren höhere Titerreduktionen nicht nachweisbar. Im Wiederholungsversuch (siehe Anhang) war jedoch eine ausreichend hohe Titerreduktion vorhanden. Bei 10°C führte das Desinfektionsmittel in gleicher Konzentration innerhalb einer Einwirkungszeit von 120 min zu entsprechend hohen Titerreduktionen (Abb.16.1.).

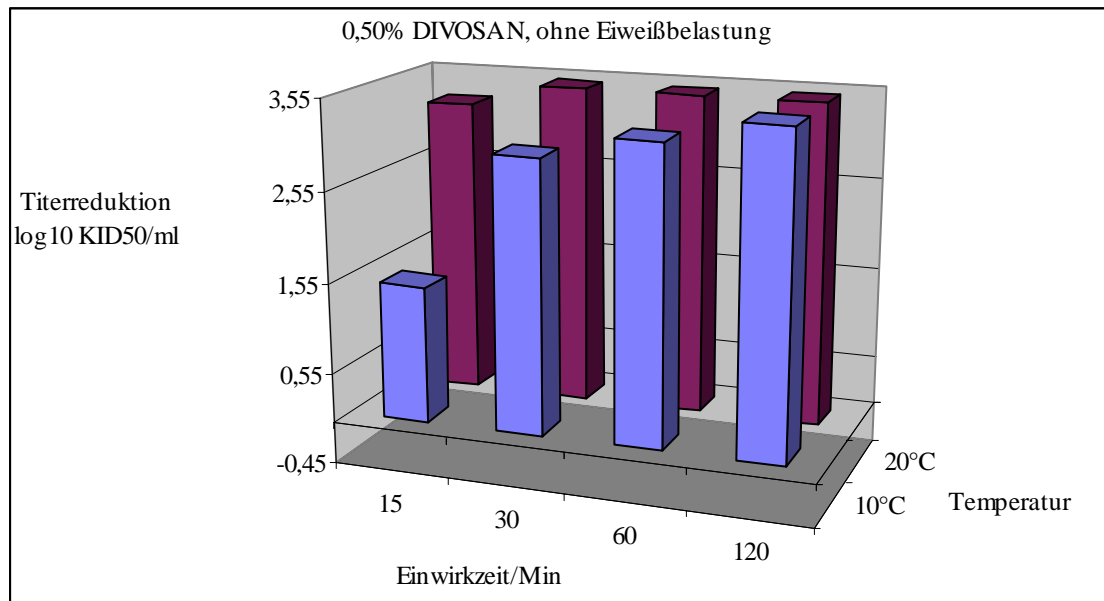


Abb.16.1.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei Absenkung der Temperatur auf 4°C war für eine Virusinaktivierung bis unter die Nachweisgrenze (3,25 Zehnerpotenzen) im Ansatz ohne Eiweißbelastung eine 1,0%ige Desinfektionsmittellösung und eine Einwirkungszeit von 120 min erforderlich (Abb.16.2.). Ausreichend hohe Titerreduktionen konnten im Wiederholungsversuch gezeigt werden (siehe tabellarischer Anhang).

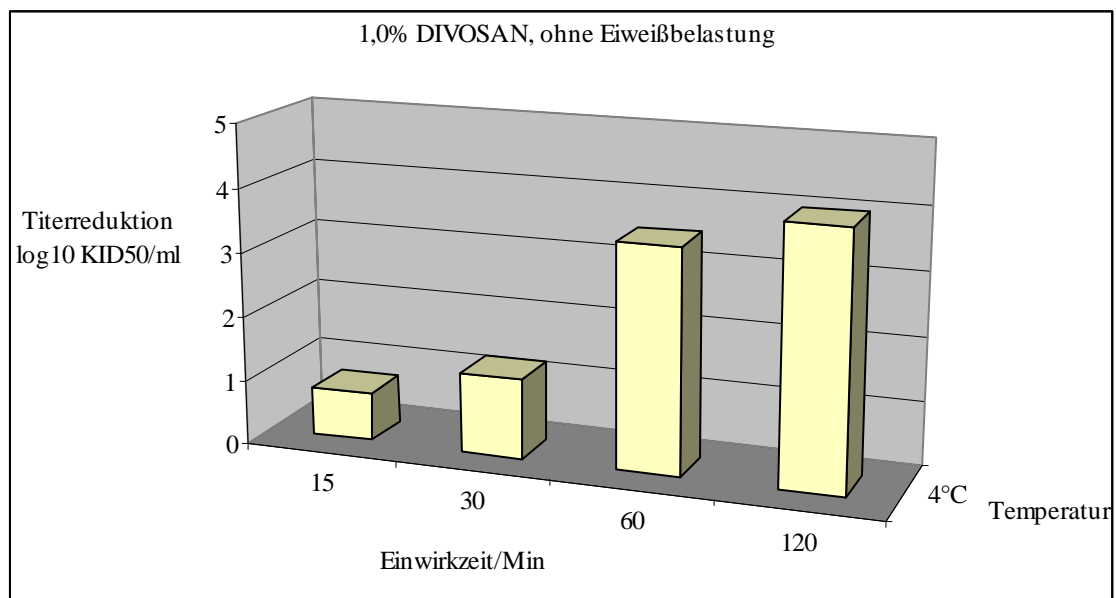


Abb.16.2.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei den Versuchen zur Desinfektion des ECBO- Virus unter Eiweißbelastung war für eine maximal erreichbare Titerreduktion von 3,25 Zehnerpotenzen bei Zimmertemperatur eine Konzentration von 1,0% für 120 min notwendig (Abb.16.3.).

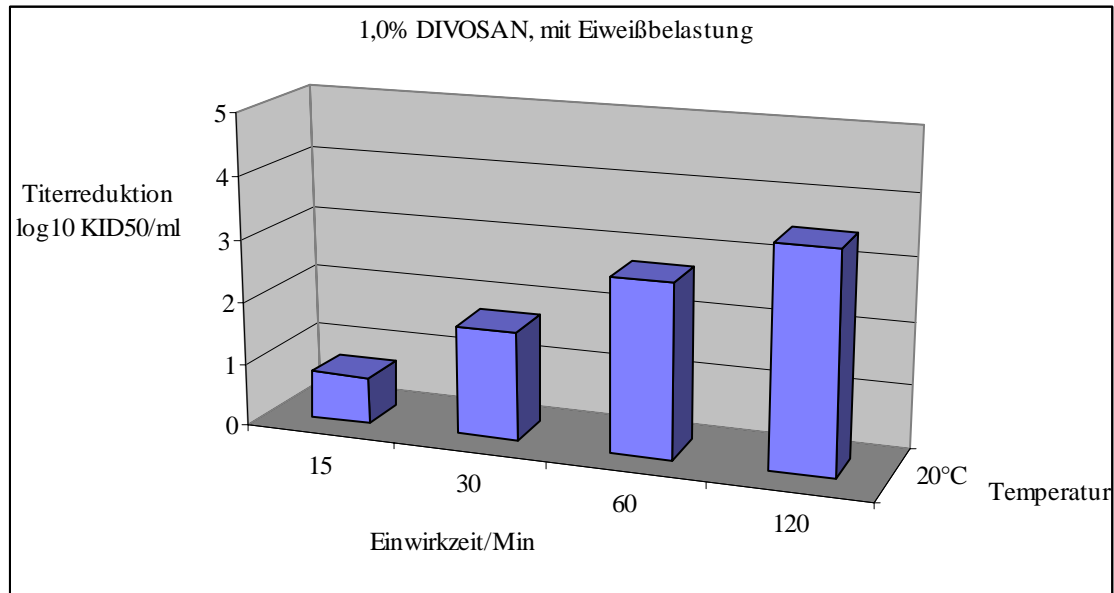


Abb.16.3.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Vergleichbar hohe Titerreduktionen (3,75 Zehnerpotenzen) erbrachten die Versuche bei 10°C und 4°C erst bei Anwendung einer 5,0%igen bzw. 6,0%igen Divosanlösung innerhalb von Einwirkungszeiten von 120 und 60 min (Abb.16.4., 16.5.).

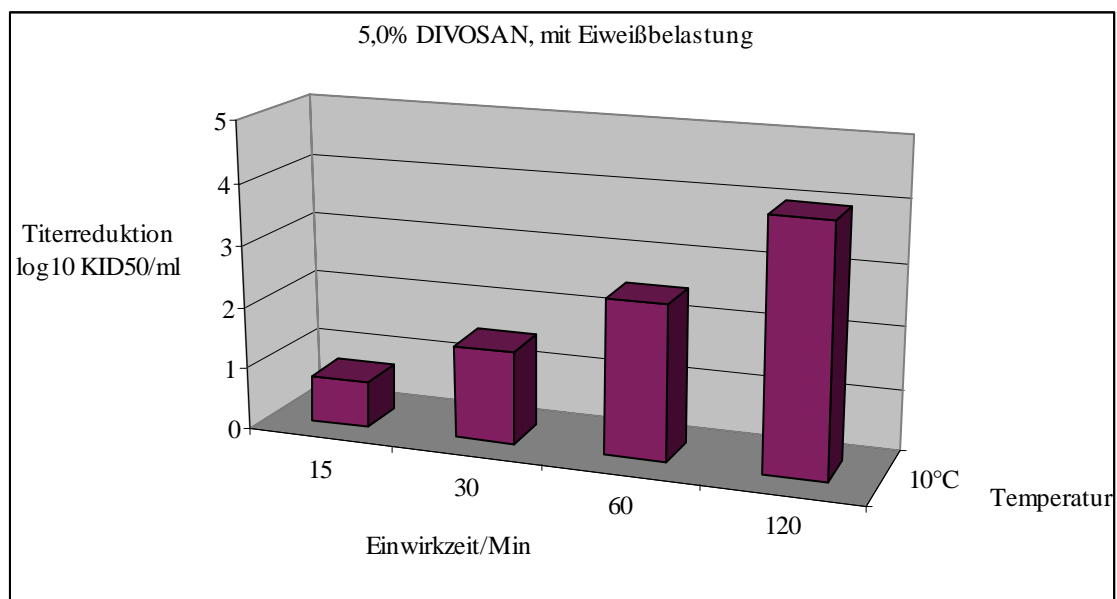


Abb.16.4.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

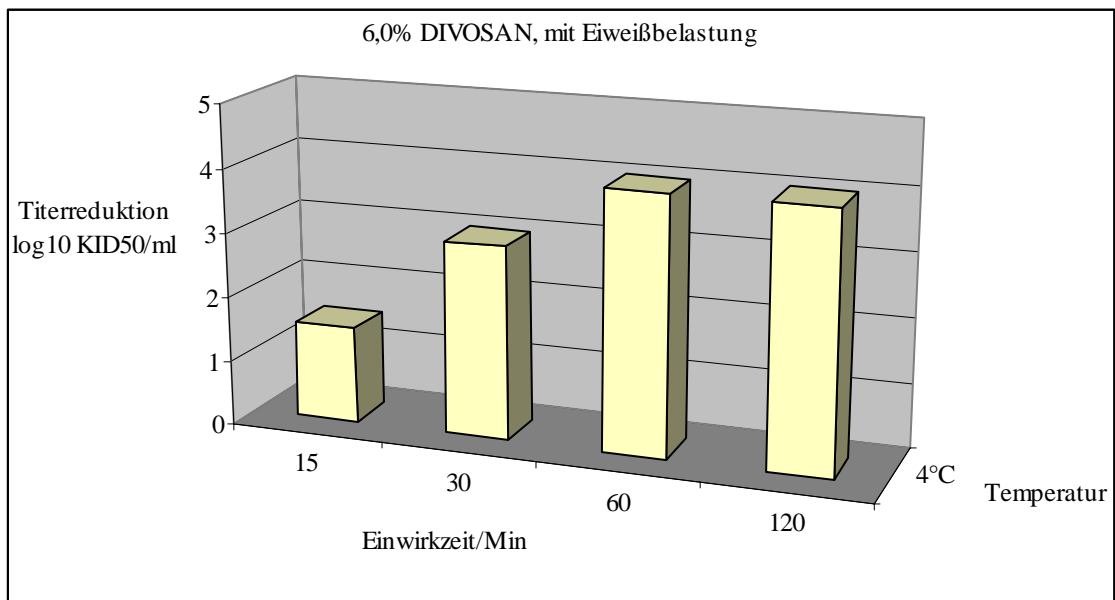


Abb.16.5.: Viruzide Wirksamkeit von Divosan SD gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.7. Orbivet

Auch bei der Prüfung von Orbivet erreichten in dem ersten Versuchsansatz die maximalen Titerreduktionen lediglich Werte von 3,25 bis 3,5 Zehnerpotenzen.

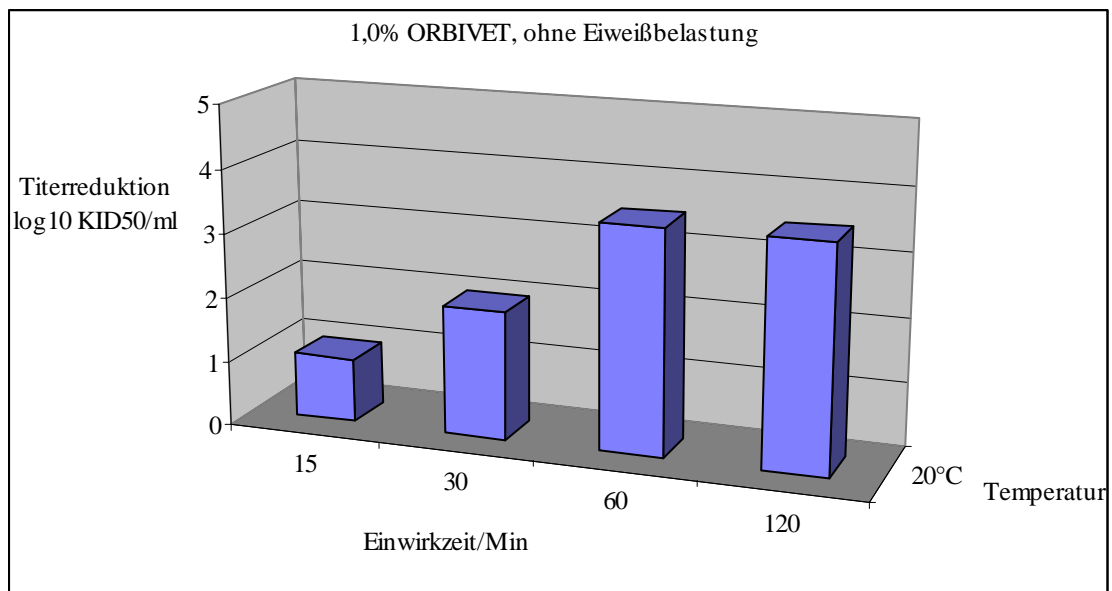


Abb.17.1.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

In den Wiederholungsversuchen lagen die Titerreduktionen jedoch bei je >4 Zehnerpotenzen (siehe tabellarischer Anhang). In den Ansätzen ohne Eiweißbelastung waren mit fallenden Temperaturen (20°C, 10°C und 4°C) zunehmend höhere Konzentrationen (1,0%; 2,0%, 3,0%) des Desinfektionsmittels für eine Desinfektion des ECBO- Virus erforderlich. Die maximal

nachweisbaren Titerreduktionen traten innerhalb von 60 min bei 20°C bzw. 120 min bei 10°C und 4°C ein (Abb.17.1., 17.2., 17.3.).

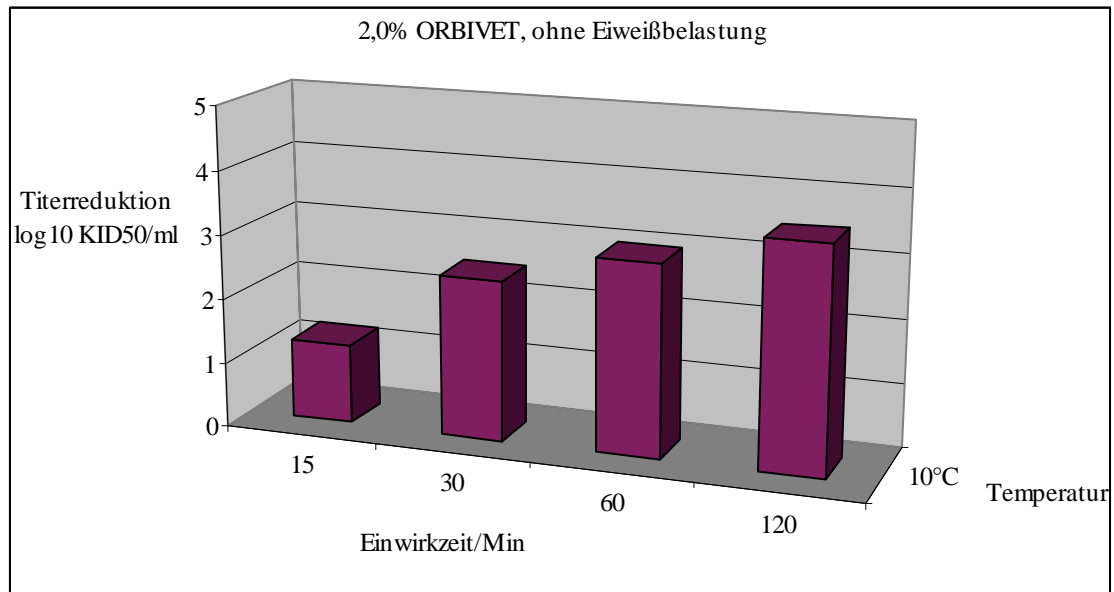


Abb.17.2.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

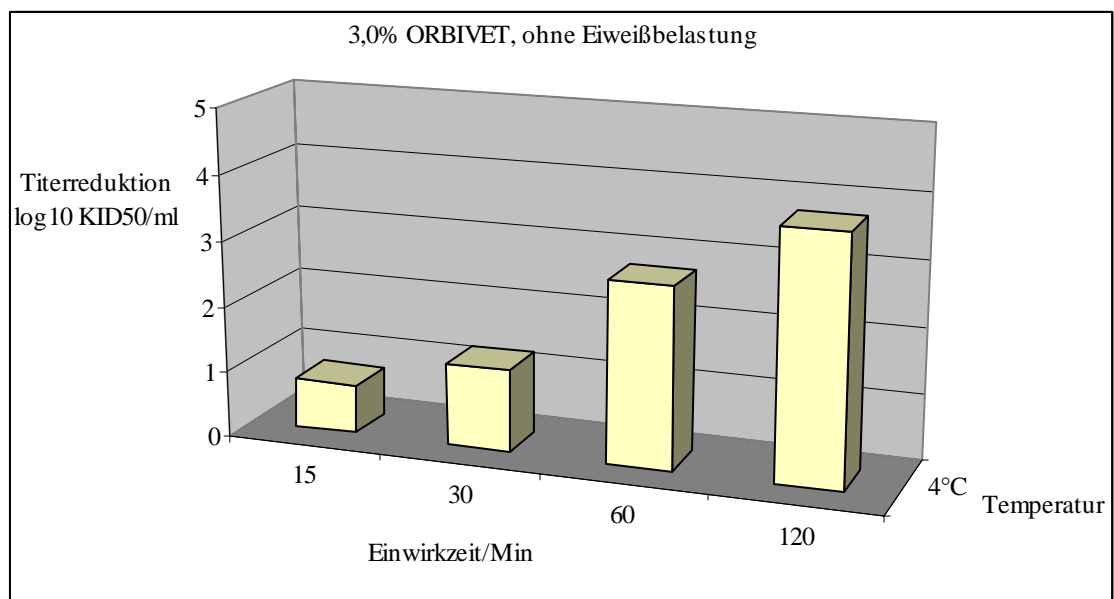


Abb.17.3.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die bei 20°, 10° und 4°C durchgeführten Versuche zur Wirksamkeitsprüfung von Orbivet unter Eiweißbelastung erbrachten annähernd gleiche Ergebnisse wie die Ansätze ohne Eiweißbelastung. Auch hier bewirkten bei 20°C eine 1,0%ige Lösung nach 120 min (Abb.17.4.), bei 10°C eine 2,0%ige Lösung nach 60 min (Abb.17.5.) und bei 4°C eine 3,0%ige Lösung nach 120 min (Abb.17.6.) maximal nachweisbare Titerreduktionen.

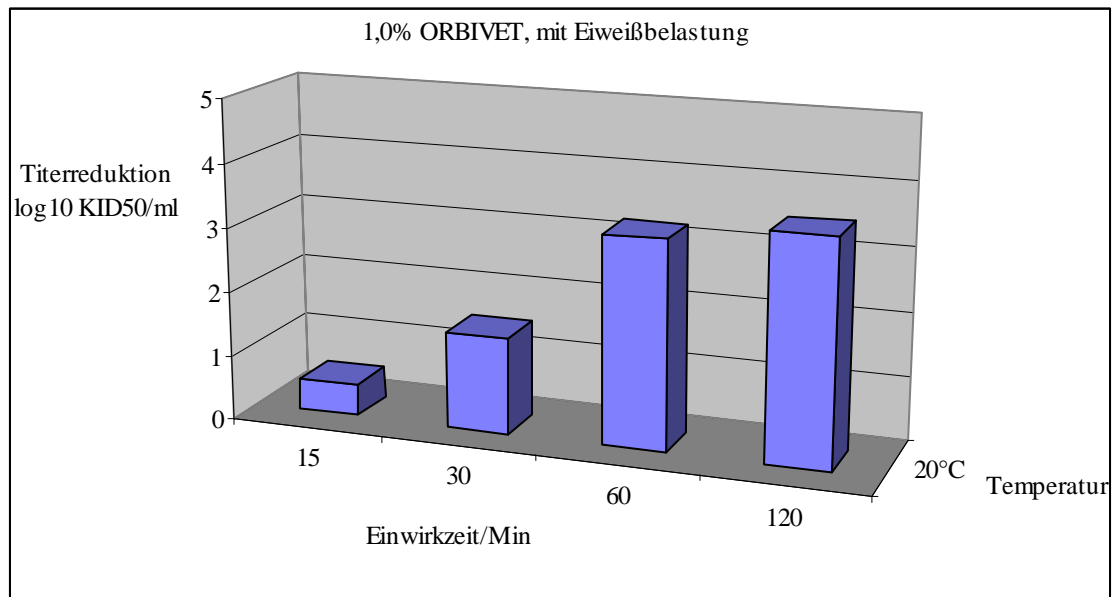


Abb.17.4.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

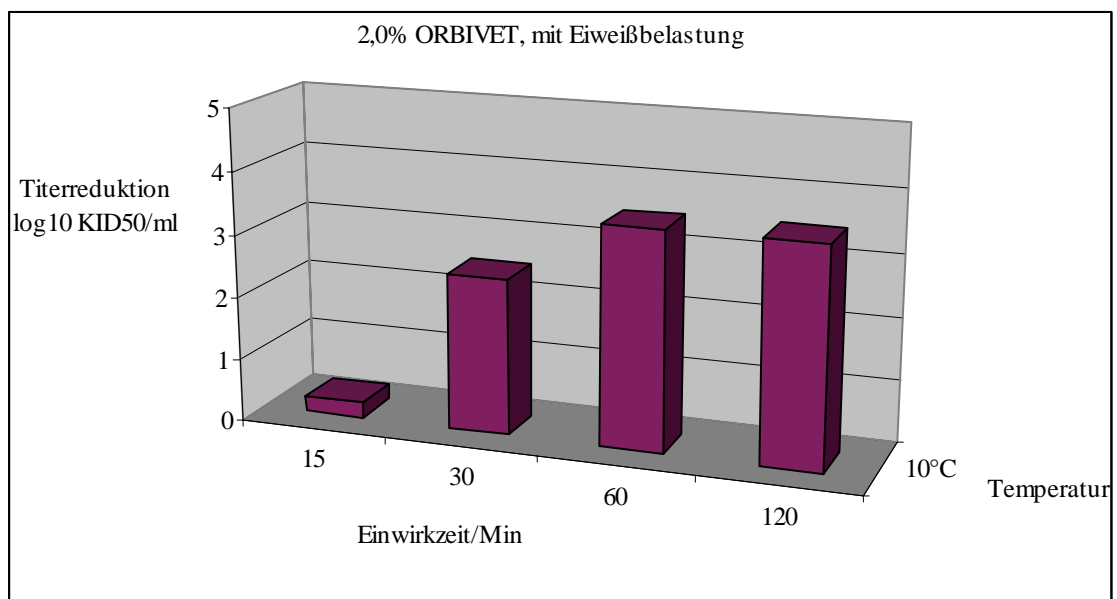


Abb.17.5.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

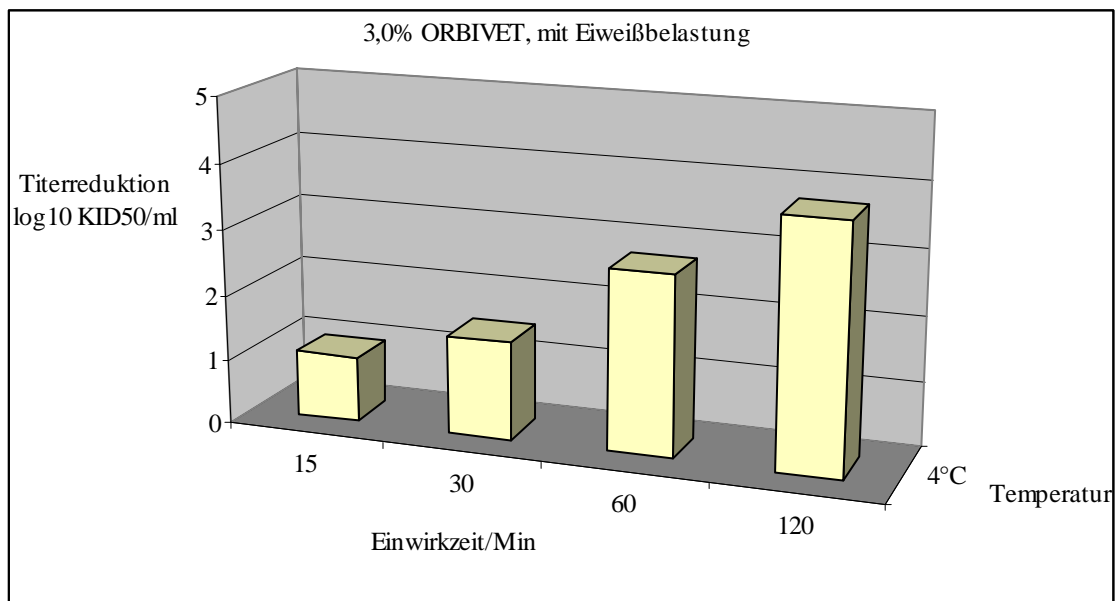


Abb.17.6.: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.3.8. Proxitane AHC

Die im Ansatz ohne Eiweißbelastung durchgeführten Versuche zur Desinfektion des ECBO-Virus erbrachten unter Verwendung einer 0,1%igen Proxitane-Lösung bei 20°C und 10°C innerhalb von jeweils 30 min eine ausreichende Titerreduktion (>4 Zehnerpotenzen) (Abb.18.1.).

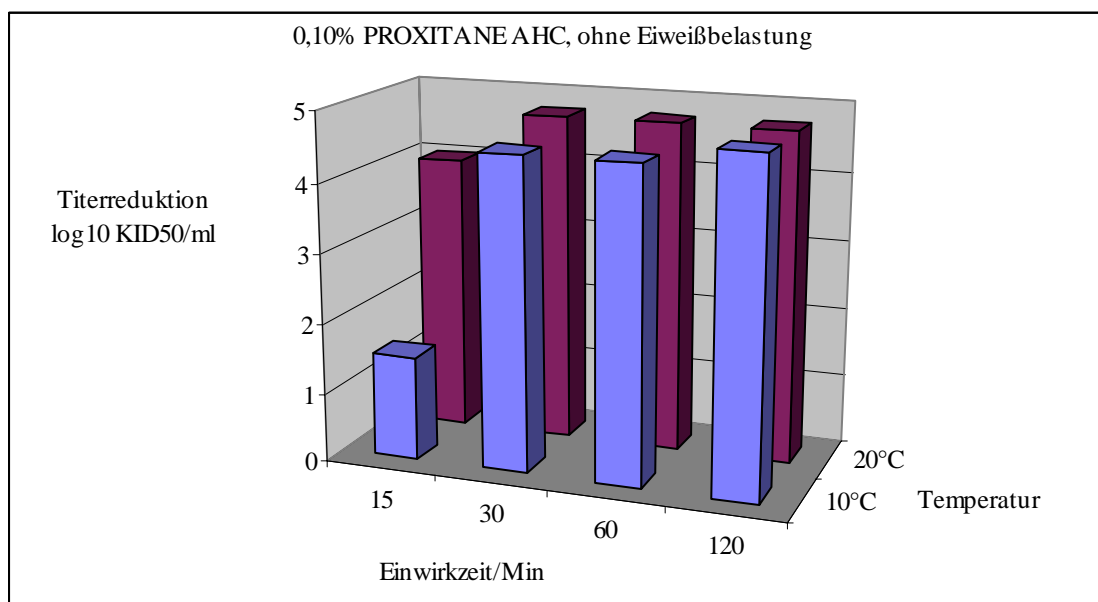


Abb.18.1.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Nach den bei einer Temperatur von 4°C durchgeführten Untersuchungen waren dagegen zur Erzielung einer entsprechend hohen Titerreduktion eine 0,25%ige Desinfektionslösung und eine Einwirkungszeit von 60 min erforderlich (Abb.18.2.).

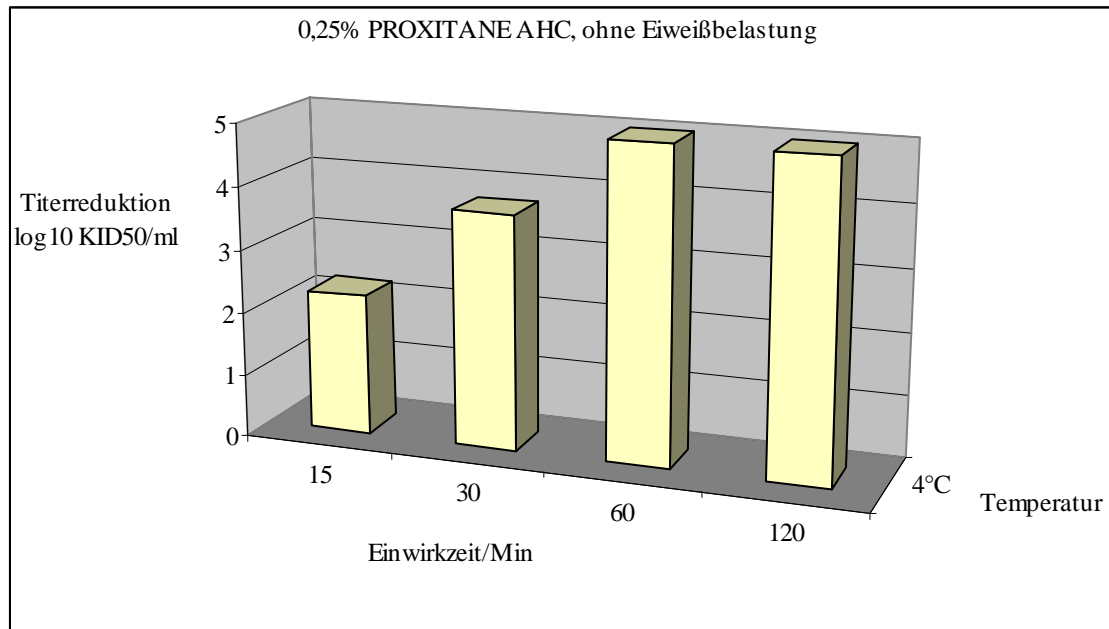


Abb.18.2.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Unter Eiweißbelastung hatte eine 0,25%ige Lösung bei allen untersuchten Temperaturen (20°C, 10°C und 4°C) eine ausreichend hohe Wirksamkeit bei 20°C nach 15 min, bei 10°C nach 120 min und bei 4°C nach 60 min (Abb.18.3.).

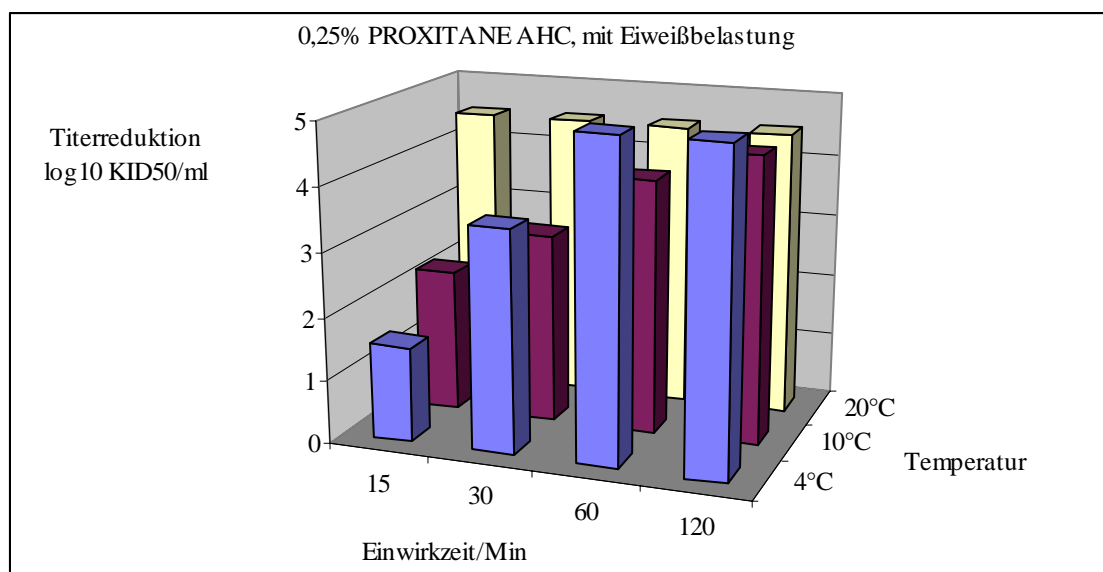


Abb.18.3.: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.9. Venno Vet 1 Super

Die Untersuchungen über die viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber ECBO- Virus ergaben in den Ansätzen ohne Eiweißbelastung eine von der Umgebungstemperatur nicht beeinflusste Effektivität. Eine 0,5%ige Desinfektionsmittellösung bewirkte bei den drei Untersuchungstemperaturen jeweils nach 30 min eine Reduktion des ECBO- Titters um mehr als 4 Zehnerpotenzen (Abb.19.1.).

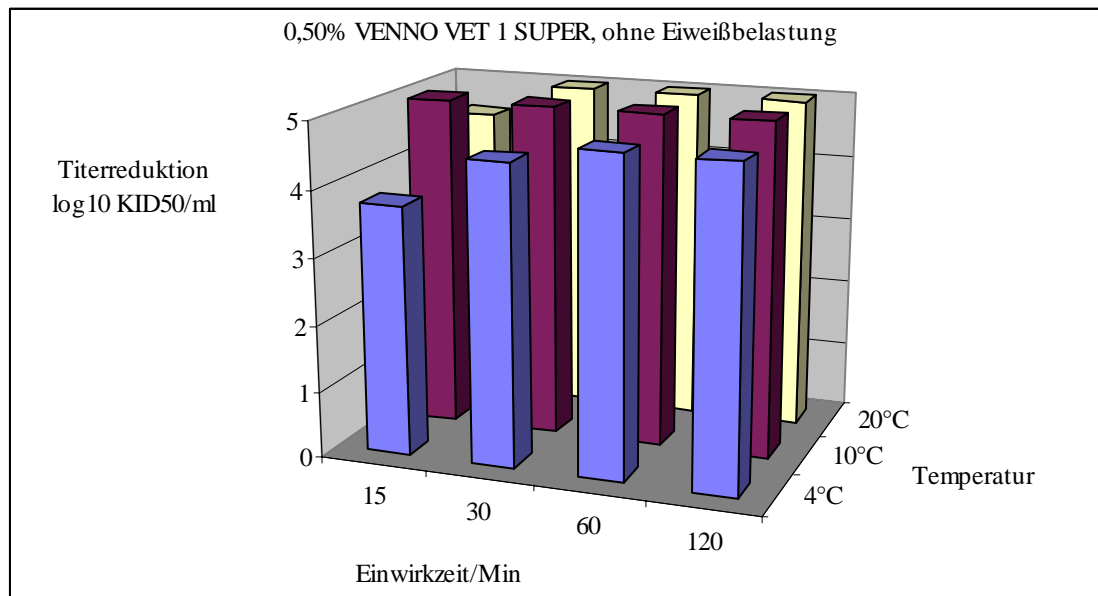


Abb.19.1.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei den unter Eiweißbelastung durchgeführten Versuchen waren dagegen mit Abnahme der Temperatur längere Einwirkungszeiten bzw. höhere Konzentrationen des Desinfektionsmittels erforderlich. Eine 1,0%ige Venno Vet 1 Super Lösung inaktivierte das ECBO- Virus bei 20°C und 10°C innerhalb von 15 min (20°C) bzw. 60 min (10°C), wogegen sich bei 4°C erst eine 2,0%ige Lösung des Desinfektionsmittels innerhalb eines Zeitraumes von 60 min als viruzid wirksam erwies (Abb.19.2., 19.3.).

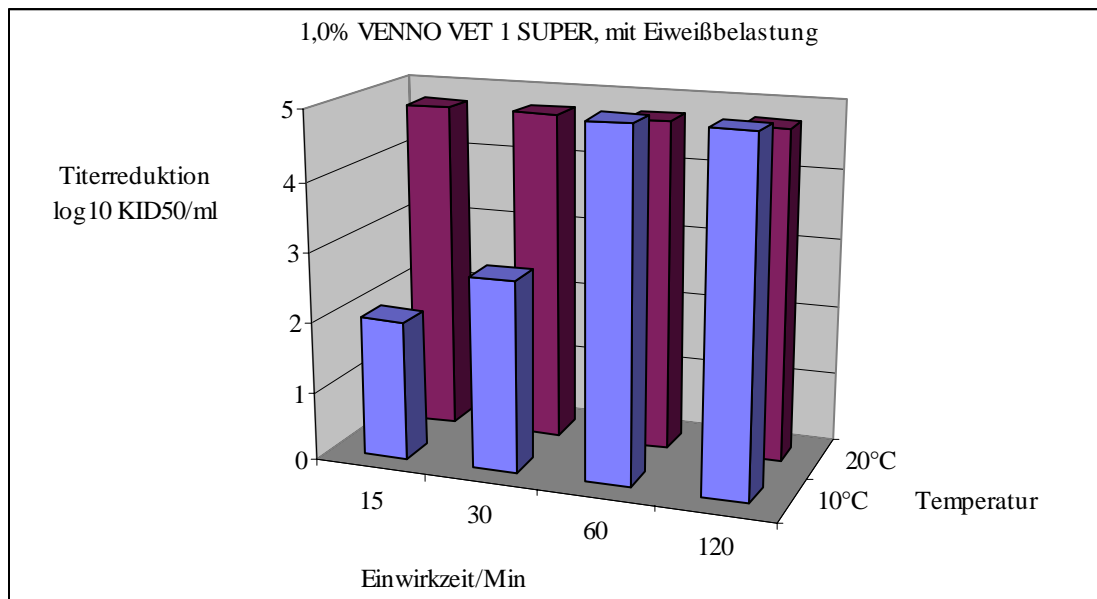


Abb.19.2.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

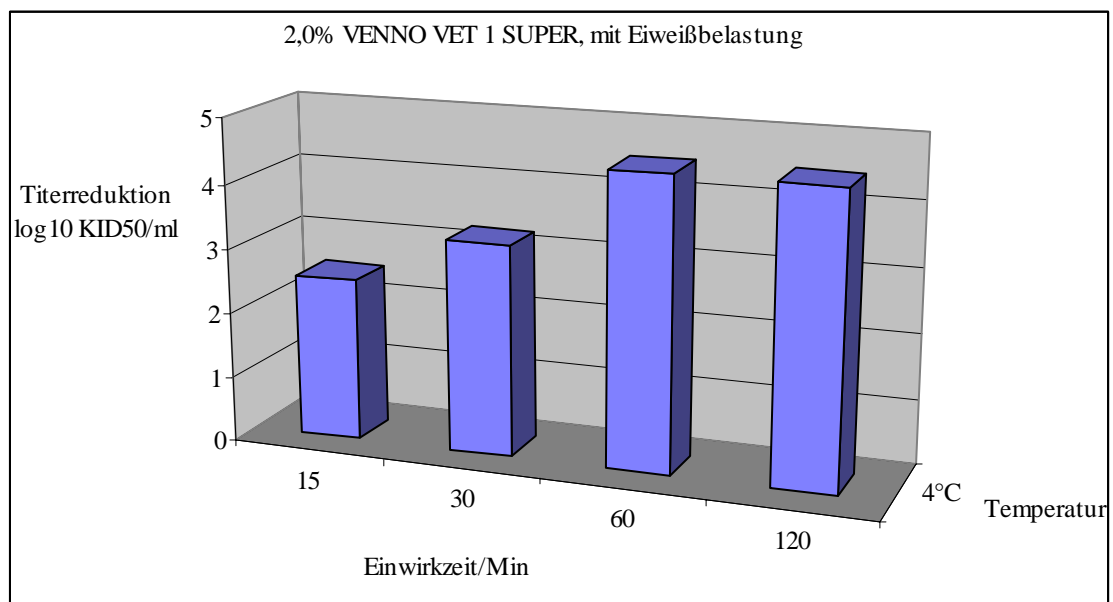


Abb.19.3.: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

3.2.2.2.10. Halamid

Mit Halamid als Desinfektionsmittel konnte das ECBO- Virus bei einer Temperatur von 20°C im Ansatz ohne Eiweißbelastung nach 60 min durch eine 2,0%ige Lösung ausreichend inaktiviert werden (Abb.20.1.).

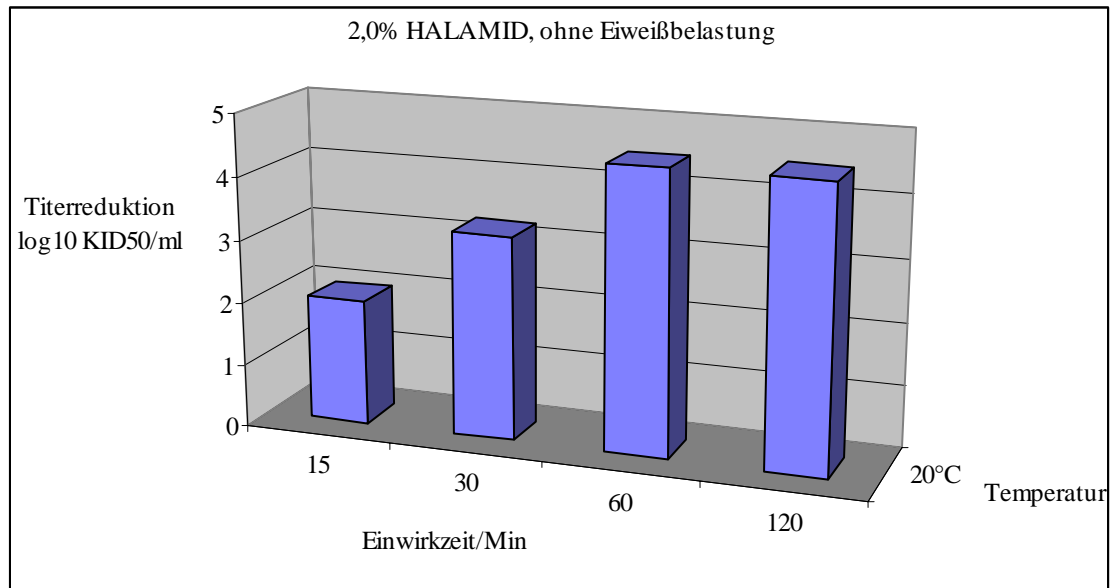


Abb.20.1.: Viruzide Wirksamkeit Halamid gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei 10°C war dagegen für den gleichen Effekt schon eine Konzentration von 4,0% und eine Einwirkzeit von 120 min erforderlich (Abb.20.2.).

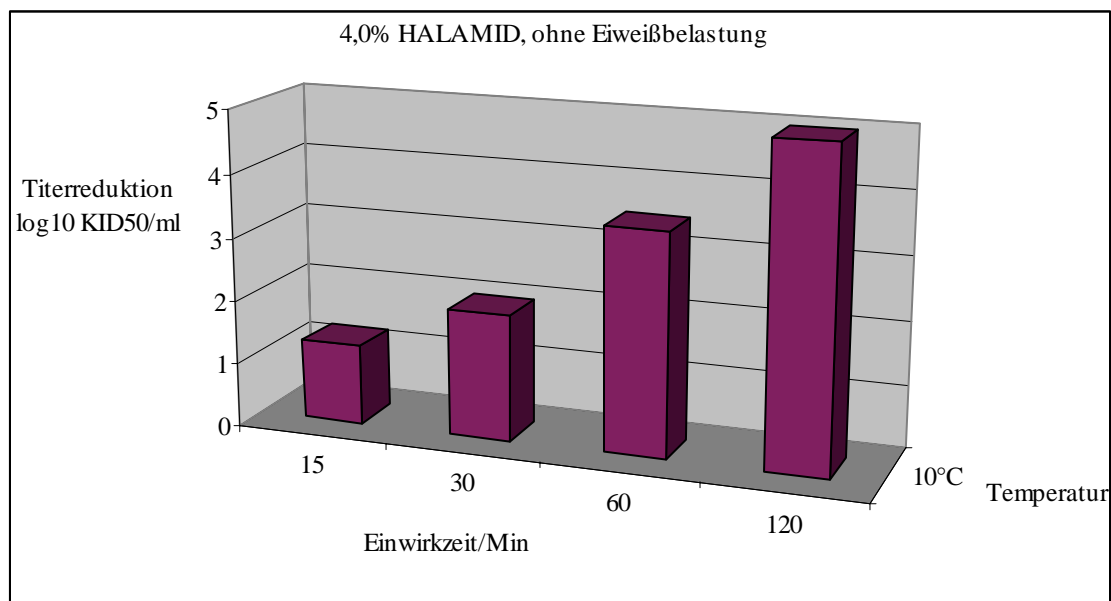


Abb.20.2.: Viruzide Wirksamkeit Halamid gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Entsprechend hohe Titerreduktionen erforderten im Ansatz bei 4°C dagegen noch eine weit höhere Konzentration des Desinfektionsmittls. Erst eine 10%ige Lösung war ausreichend, um das Virus innerhalb von 120 min zu inaktivieren (Abb.20.3.).

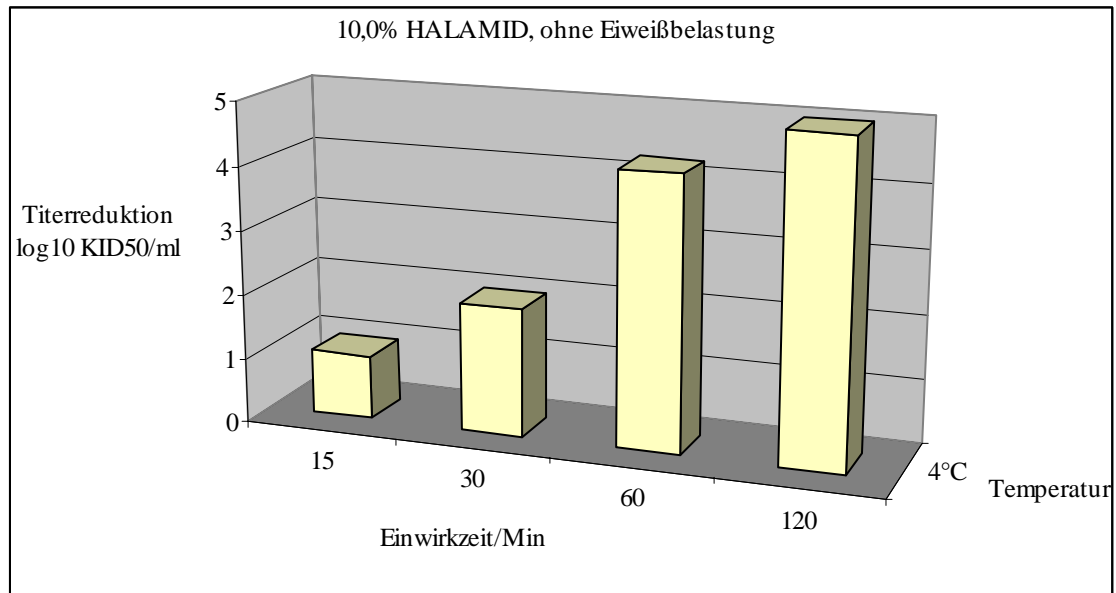


Abb.20.3.: Viruzide Wirksamkeit Halamid gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Die Prüfung von Halamid unter Eiweißbelastung erbrachten, daß die Konzentration auf 3,0% gegenüber den verwendeten 2,0% im unbelasteten Ansatz erhöht werden mußte, um bei 20°C innerhalb von 60 min eine ausreichende Reduktion des ECBO- Titors zu bewirken (Abb.20.4.).

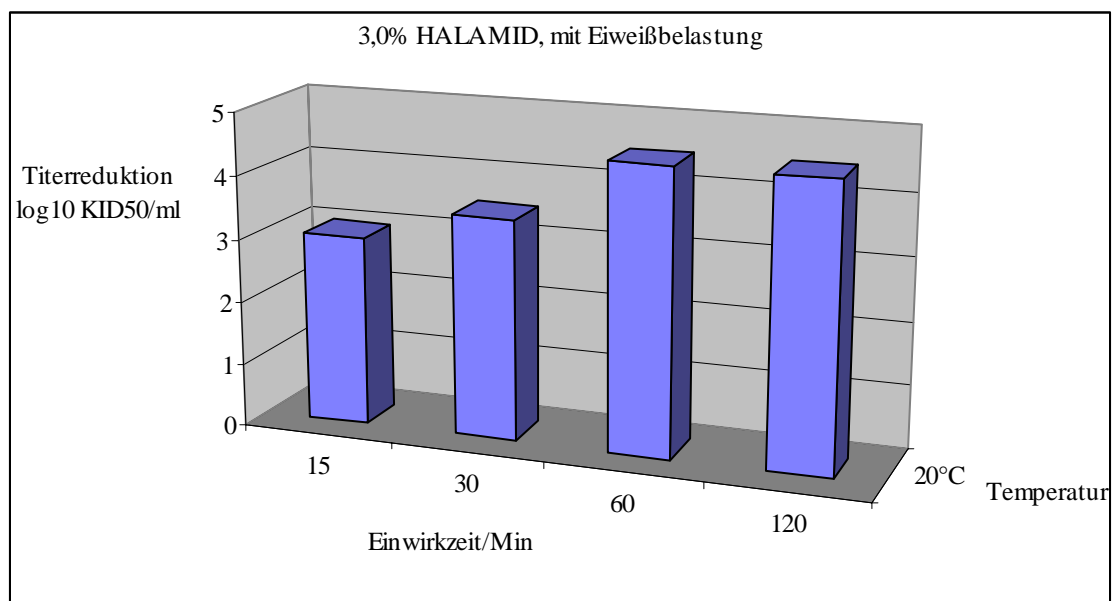


Abb.20.4.: Viruzide Wirksamkeit Halamid gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Bei einer Temperatur von 10°C konnte 10%iges Halamid nach 120 min zwar den Virus-Titer um 4 log-Stufen verringern, es war aber noch immer infektiöses Virus nachweisbar (siehe tabellarischer Anhang). (Abb.20.5.).

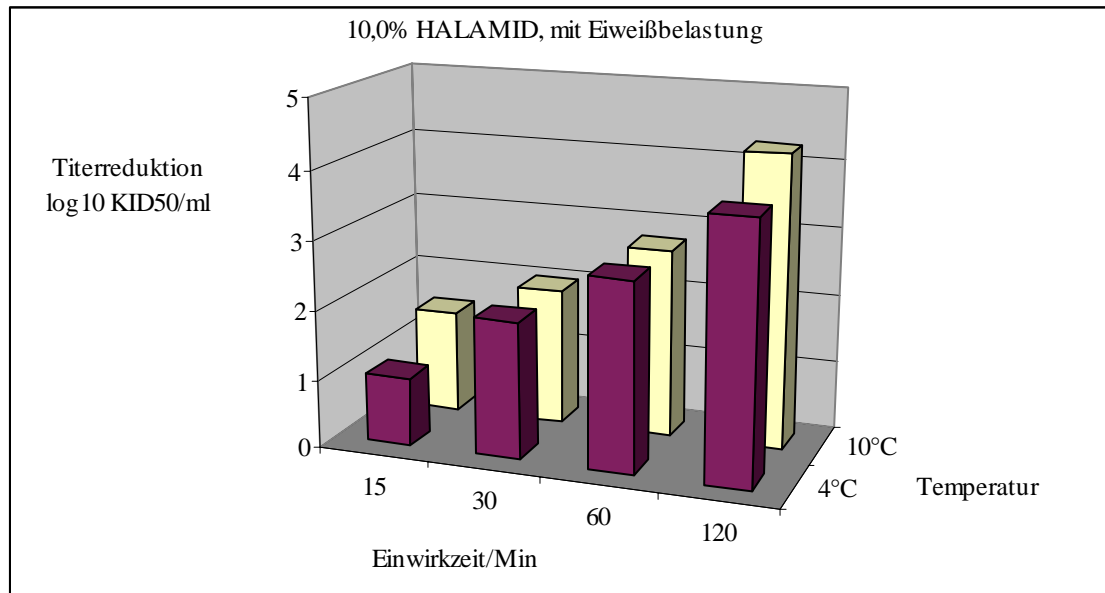


Abb.20.5.: Viruzide Wirksamkeit Halamid gegenüber ECBO- Virus im Suspensionsversuch

Wie aus Abbildung 20.5. ersichtlich wird, konnte mit der 10%igen Lösung des Halamid bei 4°C innerhalb von 120 min keine ausreichende Wirksamkeit nachgewiesen werden. Höhere Konzentrationen wurden aus Gründen der Zytotoxizität nicht untersucht.

3.2.3. Temperaturfaktoren $TF_K 4^\circ$ (K= Konzentration) und $TF_E 4^\circ$ (E= Einwirkungszeit) verschiedener Desinfektionsmittel für eine wirksame Desinfektion bei 4°C

Die Versuche zur Desinfektion des EAV und ECBO- Virus in der Suspension haben gezeigt, dass bei Temperaturen unter 20°C (10°C und 4°C) die Konzentration des Desinfektionsmittels für eine ausreichende Desinfektion zu erhöhen bzw. die Einwirkungszeit zu verlängern war.

In Bezug auf die Anwendung der Desinfektionsmittel bei 4°C geben die Temperaturfaktoren $TF_K 4^\circ$ und $TF_E 4^\circ$ an, um welchen Faktor die Konzentration eines Desinfektionsmittels innerhalb einer Einwirkungszeit von 120 Minuten zu erhöhen ist bzw. sich die Einwirkungszeit verlängert, wenn eine Erhöhung der Konzentration des Desinfektionsmittels nicht notwendig ist ($TF_K 4^\circ = 1$), um eine jeweils weitgehend übereinstimmende Wirksamkeit wie bei 20°C zu erzielen.

In der Tabelle 3 sind die ermittelten Temperaturfaktoren der untersuchten Desinfektionsmittel in Abhängigkeit von der Eiweißbelastung für behüllte (EAV) und unbehüllte Viren (ECBO) wiedergegeben. Für die Desinfektionsstoffe, deren Konzentration bei einer Temperatur von 4°C nicht erhöht werden musste (d.h. Temperaturfaktor $TF_K 4^\circ = 1$), wird der einwirkungszeitabhängige Temperaturfaktor ($TF_E 4^\circ$) angegeben.

So muss zum Beispiel bei der Anwendung von Formaldehyd sowohl mit als auch ohne Eiweißbelastung die Konzentration um das sechsfache erhöht werden, um das EAV- und das ECBO- Virus innerhalb von 120 Minuten bei einer Temperatur von 4°C zu inaktivieren.

Die Untersuchungen mit Peressigsäure ergaben mit und ohne Eiweißbelastung für beide Testviren einen konzentrationsabhängigen TF_K von 1, was bedeutet, dass für eine ausreichende Desinfektion keine Konzentrationserhöhung erfolgen muss. Nur die Einwirkungszeit verlängerte sich bei EAV um das vier- und bei ECBO um das zweifache, was sich in den einwirkungszeitabhängigen Temperaturfaktoren von $TF_E 4^\circ = 4$ (EAV) und von $TF_E 4^\circ = 2$ (ECBO) darstellt.

Die Temperaturfaktoren der untersuchten Desinfektionsmittel können der Tabelle 3 entnommen werden.

Tabelle 3: Temperaturfaktoren (TF_{K4° und TF_{E4°)

Desinfektions- mittel	Eiweiß- belastung	EAV		ECBO	
		TF_{K4°	TF_{E4°	TF_{K4°	TF_{E4°
ALDEKOL-DES 02	A	1	8	2	-
	B	5	-	6	-
DIVOSAN SD	A	2	-	2	-
	B	5	-	6	-
ORBIVET	A	2	-	3	-
	B	1	4	3	-
PROXITANE	A	1	2	2,5	-
	B	10	-	1	4
VENNO VET 1 SUPER	A	5	-	1	2
	B	5	-	2	-
HALAMID	A	1	8	5	-
	B	2	-	3,33	-
FORM- ALDEHYD	A	6	-	6	-
	B	6	-	6	-
NATRIUMHYPO- CHLORIT	A	2	-	4	-
	B	6	-	5	-
AMEISEN- SÄURE	A	20	-	1	4
	B	6	-	2	-
PERESSIG- SÄURE	A	1	4	1	2
	B	1	4	1	2

A : ohne Eiweißbelastung

B : mit Eiweißbelastung

1 : gleichbleibende Konzentration

- : standardisierte Einwirkungszeit von 120 Minuten

$$TF_{K4^\circ} = \frac{\text{Viruzid wirksame Konzentration bei } 4^\circ\text{C}}{\text{Viruzid wirksame Konzentration bei } 20^\circ\text{C}} ; TF_{E4^\circ} = \frac{\text{Viruzid wirksame Einwirkzeit bei } 4^\circ\text{C}}{\text{Viruzid wirksame Einwirkzeit bei } 20^\circ\text{C}}$$

4. DISKUSSION

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass bei fast allen geprüften Desinfektionsmitteln ein Wirkungsverlust gegenüber behüllten und unbehüllten Viren bei Temperaturen von 10°C und 4°C gemessen an ihrer Wirksamkeit bei 20°C vorlag. Im besonderen waren hiervon die Aldehyde, organische Säuren und Chlorabspalter unter Eiweißbelastung betroffen. Die Sauerstoffabspalter wie z. B. die Peressigsäure wiesen dagegen auch bei diesen Temperaturen eine vergleichbare Wirksamkeit wie bei 20°C auf.

Prüfmethodik:

Der Suspensionsversuch ist fester Bestandteil aller Prüfvorschriften von Desinfektionsmitteln in Bezug auf ihre Wirksamkeit gegenüber Viren, Bakterien, Pilze oder auch parasitäre Dauerstadien. Bei diesem Test werden Mikroorganismus und Desinfektionsmittel in wässrigem Milieu, eventuell auch unter Zusatz belastender Stoffe, wie tierisches Eiweiß, miteinander in Kontakt gebracht und anschließend wird zu verschiedenen Zeiten die Vitalität der Mikroorganismen geprüft. Dieses Verfahren ist wegen seiner einfachen Durchführbarkeit und Unabhängigkeit gegenüber nicht wägbaren Faktoren ein ideales Prüfinstrument und beantwortet, bei Durchführung unter Eiweißbelastung, gleichzeitig eine so wichtige Frage wie die prinzipielle Wirksamkeit des zu prüfenden Desinfektionsmittels in einem mit organischen Stoffen belasteten Milieu. Entsprechend wird der Suspensionsversuch als eine der standardisiertesten und mit einem hohen Maß an Reproduzierbarkeit bewerteten Techniken zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel eingestuft (REYBROUCK; WERNER, 1975). Auch in den Prüfrichtlinien der DVG für die Tierhaltung, in denen zwar die entscheidenden Bewertungskriterien für die Wirksamkeit auf Untersuchungen mit Keimträgern beruhen, hat der Suspensionsversuch einen hohen Stellenwert. Als Gründe sind auch hier die hohe Verlässlichkeit und die gute Reproduzierbarkeit dieser Technik anzuführen. Die Versuche mit Keimträgern werden dagegen eher von dem Gesichtspunkt getragen, möglichst „praxisnah“ zu sein, um eine Übertragung der erzielten Ergebnisse auf die im Feld vorliegenden Bedingungen zu erlauben. Zwar wurden auch in diesem Rahmen erhebliche Anstrengungen zur Standardisierung der Keimträgerversuche unternommen, jedoch erreichen diese Prüftechniken

im Hinblick auf Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit in keiner Weise die Qualität des Suspensionsversuchs (MROZEK 1976).

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen ging es weniger darum, praxisnahe Aussagen über die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln bei tieferen Temperaturen zu erhalten, sondern um die generelle Frage nach dem möglichen Einfluss abnehmender Temperaturen auf die viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel. Die Bearbeitung dieser Thematik erforderte standardisierbare und gut reproduzierbare Techniken. Daher wurden die eigenen Untersuchungen im Suspensionsversuch durchgeführt. Die Methodik der Untersuchungen erfolgte in Anlehnung an die, in den Richtlinien der DVG beschriebenen Suspensionstests zur Prüfung der viruziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln, da die Untersuchungen auf Desinfektionsmittel für den Tierhaltungsbereich zielten. Der Suspensionstest wird in Reagenzröhrchen durchgeführt, was für die Ziele der eigenen Untersuchungen den Vorteil besaß, in einfacher und sicherer Weise, durch Platzierung der Röhrchen in einem Kühlwasserbad, Prüfungen unterhalb der Raumtemperatur vornehmen zu können.

Die Prüfvorschriften der DVG wurden bereits 1974 von einem Expertengremium, dem Desinfektionsmittelausschuss der DVG, erstellt. Trotz zwischenzeitlich erfolgter Neuauflagen, ergaben sich bisher keine Notwendigkeiten, die Methodik des Suspensionsversuchs für die Prüfung auf Viruzidie neu zu gestalten. Der Test gilt als sehr robust und hat Eingang in zahlreiche Untersuchungen zur Bestimmung der viruziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gefunden. Die Methodik kann infolgedessen als ein sehr bewährtes Untersuchungsverfahren eingestuft werden. Entsprechend diesen Überlegungen war bei den Ergebnissen der eigenen Versuche von einem hohen Maß an Reproduzierbarkeit auszugehen. In Anbetracht dieser zu erwartenden Sicherheit wurde daher von einer größeren Zahl von Wiederholungsversuchen abgesehen. Es wurde entschieden, jedes Versuchsergebnis lediglich durch einen Bestätigungsversuch abzusichern. Nur im Falle einer erheblichen Abweichung der Versuchsergebnisse voneinander war ein dritter Versuch vorgesehen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden lediglich die Ergebnisse der ersten Versuche graphisch im Ergebnisteil dargestellt. Die Bestätigungsversuche sind vergleichend zu den Ergebnissen des ersten Untersuchungsdurchgangs im tabellarischen Anhang verzeichnet. Die hohe Übereinstimmung der Werte bestätigte die mit dieser Methodik erzielbare gute Reproduzierbarkeit und damit auch die Richtigkeit dieser Vorgehensweise.

Testvirusarten:

Das Ergebnis der Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf ihre mikrobizide Wirksamkeit wird entscheidend von der Wahl der verwendeten Testorganismen mitbestimmt. Für die Auswahl dieser als „Prüfkeime“ verwendeten Mikroorganismen lassen sich diverse Kriterien heranziehen. Von verschiedener Seite wurde gefordert, dass es sich bei den „Testkeimen“ um bedeutende Krankheitserreger handeln soll (MAHNEL, 1984). Hierdurch wäre ein realer Bezug zwischen der Desinfektionsmittelprüfung und dem Ziel der Anwendung dieses geprüften Mittels, nämlich der Infektionsprophylaxe, möglich. Eine ähnliche Philosophie wird auch bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln in Nordamerika vertreten (BORNEFF et al., 1975). Die „Testorganismen“ sollten möglichst das gleiche Spektrum von Erregern repräsentieren, gegen die das Desinfektionsmittel in der Praxis vorgesehen ist. Diese Vorgehensweise beschränkt jedoch die Verwendung des Desinfektionsmittels lediglich auf solche Fälle, die von dem Prüfumfang abgedeckt sind. Mit dem Ziel der Abgabe einer allgemeinen Anwendungsempfehlung wird in Deutschland und im Zuge der EU-weiten Harmonisierungsbestrebungen der Desinfektionsmittelprüfung ein anderer Weg bei der Auswahl von Testorganismen beschritten. Von der sicherlich auch emotional gelenkten Forderung, dass es sich bei den Prüforganismen um bedeutende Krankheitserreger handeln müsse, wird abgesehen. Die auszuwählenden Mikroorganismen sollen jedoch hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse den pathogenen Erregern entsprechen, bzw. eine höhere Widerstandsfähigkeit aufweisen. Sie dienen als ein Modell, das stellvertretend für die Prüfung mit pathogenen Erregern verwendet wird. Von einem derartigen „Keimmodell“ lässt sich somit eine breiter gefächerte Anwendungsempfehlung ableiten. Weitere Anforderungen beziehen sich auf die potentielle Gefährlichkeit der Erreger und ihre Vermehr- und Nachweisbarkeit. Es soll sich weder um Erreger von anzeigepflichtigen Tierseuchen noch um Zoonoseerreger handeln. Des weiteren sollen die Teststämme unter Laborbedingungen einfach und mit hohen Titern vermehrbar und sicher und mit einfachen Techniken nachweisbar sein (DVG, 1984). Bezogen auf die Prüfung an Viren bedeutet dies, dass die Testorganismen hohe Titer in permanenten Zellkulturen erzeugen und einen ausgeprägten zytopathischen Effekt induzieren müssen. Aus Sicht der Akzeptanz eines Modells wäre sicherlich noch zu fordern, dass die verwendeten Erreger in der Tierpopulation verbreitet sind und auch nachgewiesen werden können. Eine Prüfung an exotischen Viren wäre für ein standartisiertes Modell wenig überzeugend. Entsprechend den formulierten

Forderungen fiel die Entscheidung für die vorliegenden Untersuchungen auf das unbehüllte bovine Enterovirus (ECBO-Virus) sowie das behüllte equine Arteritisvirus (EAV) als Testvirusarten. Beide Virusarten sind in der Tierpopulation verbreitet und lassen sich in permanenten Zellkulturen zu hohen Titern vermehren. Anhand ihres ausgeprägten zytopathischen Effektes sind sie leicht nachzuweisen und sind keine Erreger von anzeigepflichtigen Tierseuchen oder Zoonosen.

Da die Tenazität von Viren im wesentlichen von dem Vorhandensein einer Hülle bestimmt wird, wurde in den Untersuchungen sowohl ein behülltes wie auch ein unbehülltes Virus verwendet. Behüllte Virusarten sind gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektionsmitteln wenig widerstandsfähig. Dagegen weisen unbehüllte Virusarten gegen derartige Einwirkungen eine hohe Tenzität auf. Von der Prüfung an Testvirusarten mit und ohne Hülle wird somit eine differenziertere Beurteilung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln erwartet. Ein entsprechendes Ziel ist auch in den Richtlinien der DVG im Kapitel „Prüfung an Viren“ vorgegeben.

Desinfektionsmittel:

Unter dem Gesichtspunkt, die Untersuchungen ausschließlich mit Desinfektionsmitteln durchzuführen, die in der Tierhaltung häufig Verwendung finden, diente als Basis für die Auswahl die „Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft für die Tierhaltung“. Die in dieser Liste aufgeführten Mittel sind aufgrund ihres Prüfzertifikates als marktbeherrschend anzusehen und es ist anzunehmen, dass sie das Spektrum der in der Tierhaltung angewendeten verschiedenen Desinfektionsmittel repräsentieren. Hinsichtlich der angegebenen wirksamen Hauptbestandteile enthielten die „gelisteten“ Präparate bis auf wenige Ausnahmen entweder Aldehyde (der überwiegende Anteil) oder Peressigsäure, organische Säuren bzw. „Chlorabspalter“. Somit ließen sich die Desinfektionsmittel, die bei der Desinfektion in der Tierhaltung die größte Bedeutung zu haben scheinen, auf lediglich 4 unterschiedliche Stoffgruppen zurückführen. Entsprechend ihres prozentualen Anteils in der DVG-Liste wurde entschieden, 3 verschiedene Präparate auf Aldehydbasis sowie jeweils ein Präparat mit organischen Säuren, Peressigsäure bzw. „Chlorabspaltern“ in die Untersuchung einzubeziehen. Zu Vergleichszwecken dienten die entsprechenden, jedoch chemisch reinen, Grundsubstanzen wie Formaldehyd, Natriumhypochlorit sowie Ameisen- und Peressigsäure.

Ergebnisse der Untersuchungen:

Die chemische Desinfektion ist im besonderen Maß abhängig von unterschiedlichen Milieufaktoren, wie z.B. der Umgebungstemperatur. Die auf Einfluss der Temperatur zielenden Untersuchungen der vorliegenden Arbeit belegen eindrucksvoll, dass diesem Faktor nicht nur bei der Desinfektion von Bakterien, sondern auch bei der Virusdesinfektion große Bedeutung beizumessen ist. Eine Reduktion der viruziden Wirksamkeit mit Abnahme der Reaktionstemperatur wird im folgenden als „Temperaturfehler“ bezeichnet. Der Vergleich der in die Untersuchungen einbezogenen Desinfektionsmittel miteinander erbrachte unterschiedlich hohe Temperaturfehler.

Nach näherer Analyse dieser Ergebnisse stehen die nachfolgend aufgeführten Befunde im Anschluss an die Auflistung zur Diskussion.

1. Mit Abnahme der Temperatur im Reaktionsmilieu wird eine je nach Desinfektionswirkstoff uneinheitlich hohe Reduktion der viruziden Wirksamkeit nachweisbar. Diese Diskrepanz gibt Anlass, die möglichen Mechanismen der Beeinflussung der viruziden Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel durch die Temperatur zu hinterfragen.
2. Die Experimente unter Eiweißbelastung erbrachten je nach Desinfektionsmittel und je nach Reaktionstemperatur unterschiedlich hohe Eiweißfehler. Hierbei stellte sich die Frage nach einem möglichen Einfluss der Temperatur auf die Höhe des Eiweißfehlers und den möglichen Ursachen dieses Phänomens.
3. Erwartungsgemäß erbrachten die Versuche extreme Unterschiede in der Wirksamkeit der untersuchten Desinfektionsmittel gegenüber behüllten und unbehüllten Virusarten. Von Bedeutung in diesem Zusammenhang ist die bisher nicht bearbeitete Fragestellung, ob auch im Hinblick auf den Temperaturfehler der Desinfektionsmittel entsprechende Unterschiede zwischen behüllten und unbehüllten Virusarten vorliegen und auf welche Umstände dies zurückgeführt werden kann.
4. Im Hinblick auf eine besondere Eignung von Desinfektionsmitteln für die Virusdesinfektion bei niedrigen Temperaturen stellt sich die Frage nach den möglichen Unterschieden in der Höhe der Temperaturfehler von chemischen Grundsubstanzen im Vergleich zu den kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln mit gleichartigen chemischen Wirkstoffen und den möglichen Ursachen.

Ad 1:

Prinzipiell war bei allen Desinfektionsmitteln, sowohl den chemischen Grundsubstanzen als auch den kommerziellen Präparaten, eine Reduktion der viruziden Wirksamkeit mit Abnahme der Temperatur von 20°C auf 4°C vorhanden. Dieser auch als „Temperaturfehler“ bezeichnete Effekt war jedoch bei den verschiedenen Desinfektionsmitteln unterschiedlich hoch.

Am ausgeprägtesten ließen sich diese Verhältnisse am Beispiel der Peressigsäure und des Formaldehyds aufzeigen. Im Gegensatz zur Peressigsäure, die nur einen sehr geringen Temperaturfehler aufwies, wurde das Formaldehyd mit abnehmender Temperatur deutlich in seiner viruziden Wirksamkeit beeinträchtigt. Alle anderen untersuchten Desinfektionsmittel wiesen Temperaturfehler auf, die im Bereich zwischen denen der PES und des Formaldehyds lagen.

Die in den vorliegenden Untersuchungen erzielten Ergebnisse zur Wirksamkeit des Formaldehyds gegenüber Viren bei niedrigen Temperaturen entsprachen in ihrer Aussage einheitlich dem Kenntnisstand der Literatur, der jedoch zumeist aus Untersuchungen an Bakterien resultiert (ASCHL, 1980; SCHLIESSER und WIEST, 1979; SPICHER, 1970). Auch die eigenen Untersuchungen mit der Peressigsäure stimmen mit anderen, meist an Bakterien durchgeführten Untersuchungen überein (STELLMACHER, SCHWEBS und SOMNITZ, 1973; SCHLIESSER und WIEST, 1979; THIEL, 1977c). Lediglich in zwei Berichten ist ein Temperaturfehler für die PES belegt (KRAUS, 1983; DIETZ und BÖHM, 1980).

Demzufolge ist die Wirksamkeit von Peressigsäure und Formaldehyd gegenüber Viren bei niedrigen Temperaturen nach den vorliegenden Untersuchungen in entsprechender Weise zu beurteilen, wie gegenüber bakteriellen Erregern. Die Unterschiede zwischen beiden Desinfektionsmitteln (ausgeprägter Temperaturfehler bei Formaldehyd, fehlender bzw. geringgradiger Temperaturfehler bei PES) lassen vermuten, dass als Ursache dieses Effekts weniger eine mit fallender Temperatur denkbare Verzögerung chemischer Reaktionen in Frage kommt, sondern sehr wahrscheinlich andere Mechanismen im Vordergrund stehen. Dafür spricht, dass die PES in einem weiten Temperaturbereich gleiche Wirksamkeit aufweist. Nach Untersuchungen von STELLMACHER et al. (1973) traten bis zu einer Temperatur von -20°C keine nennenswerten Wirkungsverluste auf. Die dem Wirkungsmechanismus zugrunde liegenden, chemischen Reaktionen (Radikalbindung und nachfolgende Oxidationsvorgänge) scheinen demnach durch Absenkung der Temperatur von

20°C auf 4°C (eigene Untersuchungen), gemessen an der biologischen Aktivität (Desinfektion von Viren), unbeeinflusst. Es ist zu spekulieren, dass dies auch für andere chemische Reaktionen zutrifft und im Fall des Vorliegens eines Temperaturfehlers - wie oben angeführt - andere Ursachen in Frage kommen. Bei Formaldehyd mit einem ausgeprägten Temperaturfehler könnten die viruzid wirksamen Anteile in der Dampfphase enthalten sein bzw. lediglich die Dampfphase viruzid aktiv sein. Mit Abnahme der Temperatur sinkt der Dampfdruck und der Anteil des Formaldehyds in der Dampfphase und somit auch die viruzide Aktivität (MOLDENHAUER, 1984; SPICHER, 1979).

Weiterhin wäre vorstellbar, dass das Formaldehyd bei niedrigen Temperaturen zu einem gewissen Teil zu dem unwirksamen Paraformaldehyd polymerisiert, wodurch keine ausreichenden Mengen an Formaldehyd für die Desinfektion mehr zur Verfügung stehen. Dieser Verlust kann zwar durch eine Konzentrationserhöhung ausgeglichen werden, jedoch waren entsprechende Untersuchungen mit hohen Konzentrationen aufgrund der Zytotoxizität des Formaldehyds für die Zellkulturen (Nachweissystem) nicht auswertbar (siehe Anhang).

Allein am Beispiel der PES und des Formaldehyds lässt sich somit ablesen, dass kein allgemein gültiger Zusammenhang zwischen Temperatur und biozider Aktivität von Desinfektionsmitteln zu bestehen scheint. Es sollte daher jedes Präparat auf seine Eignung für den Einsatz bei tiefen Temperaturen geprüft werden. Diese Forderung wird durch den Nachweis unterschiedlich hoher Temperaturfehler bei den meisten in die Untersuchungen einbezogenen Desinfektionsmitteln eindrucksvoll belegt.

Ad 2:

Die Frage, inwieweit FKS als Modell für die Belastung des Milieus mit organischen Substanzen die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels beeinflusst und ob dieser Effekt bei der Absenkung der Temperatur noch verstärkt wird bzw. erst auftritt, ist entscheidend für die Beurteilung der bioziden Aktivität unter Praxisverhältnissen. Wie nach dem Kenntnisstand der Literatur zu erwarten, waren bei den Desinfektionsmitteln bzw. den chemischen Grundsubstanzen auf Basis von Chlorabspaltern, organischen Säuren, Sauerstoffabspalter und Aldehyden ein mehr oder weniger stark ausgeprägter Eiweißfehler nachweisbar (EDELMEYER, 1982; WALLHÄUSER, 1984; WECKERLE, 1989).

Bei Natriumhypochlorit wird der Eiweißfehler durch die proteinbedingte Chlorzehrung und dem dadurch bedingten Verlust der Oxidationswirkung erklärt. Die mikrobizide Wirksamkeit der Halogene ist somit in Gegenwart von Blut, Eiter und Serum deutlich verringert (EDELMEYER, 1982). Interessant ist, dass sich dieser Effekt mit Abnahme der Temperatur noch verstärkt.

Auch bei dem einzigen kommerziell erhältlichen Chlorpräparat, dem Halamid, war ein deutlicher Eiweißfehler vorhanden, der nach Reduktion der Temperatur auf 4°C in einem fast vollständigen Wirkungsverlust, sogar beim Einsatz einer 10%igen Lösung des Desinfektionsmittels, gegenüber dem unbehüllten ECBO- Virus resultierte. Welche Ursachen diesem Phänomen zugrunde liegen, lässt sich durch die vorliegenden Untersuchungen nicht ableiten. Als Folgerung aus diesen Versuchen jedoch sind Chlorabspalter für den Einsatz bei niedrigen Temperaturen im belasteten Milieu als ungeeignet.

Im Gegensatz zu den Chlorabspaltern war bei den ebenfalls mit einem deutlichen Eiweißfehler behafteten Desinfektionsmitteln auf Basis organischer Säuren mit Abnahme der Temperatur keine weitere Steigerung des Eiweißfehlers vorhanden bzw. messbar. Hierbei muss jedoch folgende Einschränkung berücksichtigt werden: In der Regel können Eiweißfehler durch Konzentrationserhöhung der Desinfektionsmittel ausgeglichen werden. In Bezug auf die organischen Säuren ist dies durch Untersuchungen von WECKERLE (1989) an Ameisensäure gut belegt. Da in den eigenen Untersuchungen wegen des bestehenden Kältefehlers bereits hohe Konzentrationen der organischen Säuren für eine ausreichende Virusdesinfektion erforderlich waren, könnte demzufolge der Eiweißfehler durch den hohen Temperaturfehler „überdeckt“ sein.

Bei den Sauerstoffabspaltern ist der Temperatureinfluss auf den Eiweißfehler differenziert nach den verwendeten Testvirusarten zu betrachten. Lediglich gegenüber dem behüllten EAV war ein Effekt vorhanden, wogegen gegenüber dem ECBO- Virus keine weitere Abnahme der Desinfektionswirkung unter Eiweißbelastung bei Absenkung der Temperatur auftrat. Auf derartige Unterschiede in der Höhe des Eiweißfehlers bei der Prüfung von Sauerstoffabspaltern gegenüber behüllten und unbehüllten Virusarten wurde bereits in anderen Untersuchungen hingewiesen (FAUSER- LEIENSETTER, 2000).

Sehr wahrscheinlich treten Eiweißfehler bei der PES nur bei der Anwendung sehr niedriger Konzentrationen auf. Dies erklärt die Unterschiede zwischen den behüllten und den unbehüllten Virusarten. Für die Desinfektion des EAV (behüllt) waren außerordentlich niedrige Konzentrationen erforderlich, wogegen für die Inaktivierung des ECBO- Virus

(unbehüllt) mehrfach höhere Konzentrationen notwendig waren und möglicherweise bereits oberhalb eines messbaren Eiweißfehlers lagen. Interessant und neu, aber unerklärlich ist, dass im Bereich des messbaren Eiweißfehlers (bei EAV) eine Zunahme dieses Effekts mit Abnahme der Temperatur eintrat.

Nach diesen Beobachtungen sollten daher bei der praktischen Anwendung von Sauerstoffabspaltern nur so hohe Konzentrationen eingesetzt werden, bei denen ein Eiweißfehler nicht mehr nachweisbar ist.

Die Aldehyde wiesen im Rahmen der eigenen Untersuchungen nur einen geringen Eiweißfehler auf. In der Literatur wird der Einfluss einer Eiweißbelastung auf die biozide Wirksamkeit der Aldehyde kontrovers diskutiert (KRAUS, 1983; EDELMAYER, 1982 und WALLHÄUSER, 1988). Da jedoch in den eigenen Untersuchungen der Eiweißfehler nur bei sehr geringen Anwendungskonzentrationen (Desinfektion des EAV) auftrat, ist dieser Effekt ähnlich wie bei den Sauerstoffabspaltern als konzentrationsabhängig einzustufen. Dies erklärt die differierenden Aussagen über das Bestehen eines Eiweißfehlers der Aldehyde.

Von der Temperatur blieb der in niedrigen Konzentrationen nachweisbare Eiweißfehler der Aldehyde nach den vorliegenden Untersuchungen unbeeinflusst.

Ad 3:

Behüllte Viren sind nach zahlreichen Untersuchungen „leichter“ desinfizierbar als unbehüllte Viren (MAHNEL, 1983). Bis auf die Ameisensäure konnte diese Regel am Beispiel des ECBO- Virus und des EAV für alle anderen untersuchten Desinfektionsmittel sicher bestätigt werden. Bei der Ameisensäure waren jedoch bereits bei 20°C höhere Konzentrationen für die Desinfektion des EAV erforderlich als für die des ECBO- Virus. Im Bereich niedriger Temperaturen (4°C) wurde diese Diskrepanz noch deutlicher. Eine zur Absicherung durchgeführte dritte Versuchsreihe (in den Ergebnissen nicht mitgeteilt) lieferte gleichlautende Resultate. Auch von anderen Untersuchern wird bei Versuchen mit Ameisensäure von einer höheren Widerstandsfähigkeit des Vacciniavirus (WECKERLE, 1989) und des Virus der Afrikanischen und der Europäischen Schweinepest (beide behüllt) (FAUSER- LEIENSETTER, 2000) vergleichend zu dem ECBO- Virus bzw. dem Maul- und Klauenseuchevirus berichtet. Zu der Frage, welchen Ursachen dieses Phänomen zugrunde liegt, lassen sich in der Literatur keine Hinweise finden. Vorstellbar wäre, dass die behüllten

Viren durch die ansonsten fragile Hüllmembran einen besonderen Schutz gegenüber der hydrolytischen Aktivität der Ameisensäure erhalten. Möglicherweise schützt der Lipidanteil der Hülle die darin eingelagerten Proteine vor ihrer Aufspaltung und damit ihrer Zerstörung. Bestätigung findet diese Hypothese durch die Versuche mit dem kommerziellen Desinfektionsmittel „VENNO VET 1 SUPER“, das neben Ameisensäure noch oberflächenaktive Verbindungen und Alkohol enthält. Dieses Präparat entsprach in seiner Wirksamkeit der Erwartung. Dennoch bleibt zu prüfen, ob diese im Vergleich zu unbehüllten Viren reduzierte Wirksamkeit der Ameisensäure gegenüber behüllten Viren Allgemeingültigkeit besitzt oder nur bei bestimmten behüllten Virusarten auftritt. Des weiteren könnten zur Prüfung der Hypothese über einen möglichen negativen Einfluss von Lipiden auf die viruzide Wirksamkeit der Ameisensäure experimentelle Untersuchungen mit Zusatz von Lipiden zu dem Reaktionsgemisch im Sinne einer „Fettbelastung“ beitragen.

Allen anderen untersuchten Desinfektionsmittel wurden durch die Temperaturunterschiede im Bereich von 20°C bis 4°C im Hinblick auf ihre Wirksamkeit gegenüber ECBO- und EA-Virus nicht messbar beeinflusst. Somit ist auch bei niedrigen Temperaturen von einer geringeren Tenazität der behüllten Viren, jedoch mit Ausnahme der Ameisensäure, im Vergleich zu den unbehüllten Virusarten gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln auszugehen.

Ad 4:

Erwartungsgemäß waren Unterschiede in der viruziden Wirksamkeit zwischen den chemischen Grundsubstanzen und den kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln, die die entsprechenden Substanzen als Hauptwirkstoffe beinhalten, vorhanden. Dies erklärt sich durch die in den kommerziellen Präparaten enthaltenen Zusatzwirkstoffe wie z.B. quarternäre Ammoniumverbindungen und Alkohole, die als Lösungsvermittler und Benetzungsmittel dienen können und auch eine viruzide Wirksamkeit, insbesondere gegen behüllte Virusarten, besitzen. Somit ist bei den kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln von synergistischen Effekten verschiedener Wirkstoffe bei einem möglicherweise gleichzeitig vergrößerten Lösungs- und Benetzungsvermögen dieser Wirkstoffe auszugehen. Entsprechend zeigten die eigenen Untersuchungen in der Tendenz eine „verbesserte“ Wirksamkeit der kommerziellen Präparate im Vergleich zu den chemischen Grundsubstanzen, gemessen an dem Anteil der

Hauptwirkstoffe in den Reaktionsgemischen. Was den Einfluss der in den kommerziellen Mitteln enthaltenen Zusatzstoffe auf den Temperaturfehler betrifft, waren die eigenen Untersuchungsergebnisse sehr verschieden. Die Zusammenhänge seien am Beispiel der Desinfektionsmittel auf Basis von Aldehyden und organischen Säuren, die als chemisch reine Substanzen einen deutlichen Temperaturfehler aufwiesen, aufgezeigt.

Im Hinblick auf die Aldehyde waren bei zwei von drei geprüften Desinfektionsmitteln, die neben Formaldehyd noch Glutaraldehyd, quarternäre Ammoniumverbindungen und Alkohole bzw. nur quarternäre Ammoniumverbindung enthielten, eine Reduktion des Temperaturfehlers nachweisbar. Dieser Effekt war ausschließlich bei der Prüfung mit dem behüllten EAV und lediglich in den Ansätzen ohne Eiweißbelastung sicher messbar. Dies lässt auf einen synergistischen Effekt der in beiden Präparationen enthaltenen quarternären Ammoniumverbindungen schließen. Da diese Substanzklasse auch bei niedrigen Temperaturen gegen behüllte Viren, nicht jedoch gegen unbehüllte wirksam ist, und einen erheblichen Eiweißfehler aufweist (SCHLIESSER und STRAUCH, 1981), wird erklärlich, warum dieser Effekt lediglich in den Ansätzen ohne Eiweißbelastung und lediglich bei dem EAV nachweisbar war. Ob die in einem Präparat enthaltenen, weiteren Inhaltsstoffe (Glutaraldehyd, Alkohole) Bedeutung für den Temperaturfehler besitzen, ist wegen der gleichzeitigen Anwesenheit der quarternären Ammoniumverbindungen in diesem Präparat nicht zu ermitteln.

Nach den Untersuchungen eines auf Basis von Aldehyden und Alkoholen hergestellten Desinfektionsmittels kann den Alkoholen eine den quarternären Ammoniumverbindungen entsprechende positive Wirkung auf den Temperaturfehler beigemessen werden. Auch hier war der Effekt auf das behüllte EAV begrenzt.

Bei den organischen Säuren diente zum Vergleich der Wirksamkeit der Ameisensäure ein Desinfektionsmittel, das daneben noch Tenside und weitere oberflächenaktive Verbindungen enthielt. Der für Ameisensäure nachweisbare Temperaturfehler war bei dem kommerziellen Präparat deutlich reduziert, jedoch ausschließlich in den Untersuchungen mit dem behüllten EAV. In Analogie zu den Schlussfolgerungen über die mögliche Bedeutung der zusätzlichen Wirkstoffe bei den Präparaten auf Aldehydbasis, scheint auch in diesem Fall die positive Beeinflussung des Temperaturfehlers auf die gegenüber behüllten Viren vorhandene viruzide Aktivität der oberflächenaktiven Substanzen zurückführbar zu sein. Dies erklärt am naheliegendsten, warum dieser Effekt besonders bei dem behüllten EAV und nicht bei dem unbehüllten ECBO- Virus auftrat.

Nach den vorgelegten Untersuchungen ist auch bei der Virusdesinfektion mit Abnahme der Temperatur im Reaktionsmilieu von 20°C auf 4°C eine Reduktion der viruziden Wirksamkeit (Temperaturfehler) in einem je nach Desinfektionsmittel unterschiedlich hohem Ausprägungsgrad zu erwarten.

Schlussfolgernd ist in Anbetracht der sehr heterogenen, temperaturabhängigen Wirkungsverluste der geprüften Desinfektionsmittel vom derzeitigen Standpunkt aus gesehen, eine spezielle Prüfung vor beabsichtigter Anwendung bei niedrigen Temperaturen zu empfehlen. Für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Desinfektionsmittel wird die Befolgung der ermittelten Temperaturfaktoren als ausreichend angesehen.

Als Konsequenz aus der vorgelegten Arbeit sollte künftig die Prüfung von Desinfektionsmitteln für den Bereich der Tierhaltung nicht nur alternativ, sondern verbindlich eine Prüfung bei 10°C oder niedriger einschließen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur auf die viruzide Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel. Als Desinfektionsmittel dienten Formaldehyd, Natriumhypochlorit, Ameisensäure, Peressigsäure sowie sechs kommerziell erhältliche Desinfektionsmittel, die unter Verwendung der 10. Desinfektionsmittelliste der DVG ausgewählt wurden. Von diesen sechs im Handel befindlichen Substanzen entfielen drei auf aldehydhaltige Präparate und jeweils eines auf Präparate mit Peressigsäure, Ameisensäure bzw. einem Chlorabspalter als hauptwirksame Bestandteile. Die Untersuchungen erfolgten in dem in den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel der DVG in Abschnitt IV B beschriebenen Suspensionsversuch mit (40% fetales Kälberserum) und ohne Eiweißbelastung unter Verwendung von bovinem Enterovirus (ECBO) und equinem Arteritisvirus (EAV) als Testvirusarten bei Temperaturen von 20° C, 10° C sowie 4° C. Die Quantifizierung der Infektiosität der Testviren erfolgte durch Titration in empfänglichen Zellkulturen.

Bei fast allen untersuchten Desinfektionsmitteln war ein Wirkungsverlust gegenüber behüllten und unbehüllten Viren bei Temperaturen von 10°C und 4°C, gemessen an ihrer Wirksamkeit bei 20°C, vorlag (Temperaturfehler). Zur Kompensation dieses Defizits waren Konzentrationserhöhungen des Desinfektionsmittels bzw. Verlängerungen der

Einwirkungszeiten erforderlich. Als Mittel zur Veranschaulichung dieser Wirkungsverluste bei der dargestellten niedrigsten Temperatur (4° C) wurden die Quotienten aus den viruzid wirksamen Konzentrationen bzw. Einwirkungszeiten bei 4° C und 20° C ermittelt und als Temperaturfaktoren K (TF_K) bzw. E (TF_E) bezeichnet. Die Werte ergaben ein direktes Maß für die Höhe der Wirkungsverluste.

Von den Grundsubstanzen zeigte die Peressigsäure die geringste Beeinflussung ihrer Wirksamkeit durch die Temperatur. Sowohl gegenüber ECBO-Virus als auch dem EAV erwiesen sich bei 4° C in den Ansätzen ohne und mit Eiweiß gleiche Konzentrationen wie bei 20° C als viruzid wirksam ($TF_K = 1$). Die lediglich vorhandene geringe Beeinträchtigung der Wirksamkeit war durch die Verlängerungen der Einwirkungszeiten kompensierbar (TF_E von 4 gegenüber EAV und von 2 gegenüber ECBO-Virus). Formaldehyd, Natriumhypochlorit und Ameisensäure zeigten sich dagegen im Hinblick auf ihre desinfizierende Wirksamkeit weitaus empfindlicher. Bei Formaldehyd lagen die TF_K -Werte gegenüber beiden Testviren sowohl in den Ansätzen mit und ohne Eiweißbelastung bei jeweils 6. Natriumhypochlorit wies im unbelasteten Bereich TF_K -Werte von 2 (EAV) und 4 (ECBO-Virus) auf. Im belasteten Bereich lagen die Werte bei 6 und 5. Für die Ameisensäure wurden gegenüber dem EAV TF_K -Werte von 20 (Ansatz ohne Eiweiß) und im Versuch mit Eiweiß von 6 ermittelt. Mit ECBO-Virus ergaben die Versuche unter Eiweißbelastung einen TF_E -Wert von 4 und ohne Eiweißzusatz einen TF_K -Wert von 2.

Von den 3 untersuchten, kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln auf Aldehydbasis zeigten 2 Präparate im belasteten Bereich ähnlich hohe TF_K -Werte wie das Formaldehyd. Bei der dritten Substanz war dagegen gegenüber dem EAV unter Eiweißbelastung keine Konzentrationserhöhung ($TF_K = 1$), sondern lediglich eine Verlängerung der Einwirkungszeit ($TF_E = 4$) erforderlich. Auch der TF_K -Wert von 3 gegenüber ECBO-Virus lag bei diesem Präparat um 3 Stufen niedriger als beim Formaldehyd. In den Ansätzen ohne Eiweißbelastung war im Vergleich zu dem reinen Formaldehyd bei allen drei Präparaten eine deutlich reduzierte Wirkungsbeeinträchtigung durch die niedrige Temperatur nachweisbar. Die TF_K -Werte lagen 3 bis 4 Stufen unter denen des Formaldehyds. Gegenüber dem EAV reichte in einem Fall zur Kompensation die ausschließliche Verlängerung der Einwirkungszeit ($TF_E = 8$). Das auf Basis von Peressigsäure hergestellte Präparat wurde im Vergleich zur reinen Peressigsäure im belasteten Bereich gegenüber dem EAV erheblich ($TF_K = 10$) und im Ansatz ohne Eiweiß gegenüber dem ECBO-Virus geringfügig ($TF_K = 2,5$) in seiner Wirksamkeit beeinträchtigt. Die weiteren Resultate entsprachen weitgehend denen bei der Peressigsäure.

Bei dem Desinfektionsmittel mit organischen Säuren als Wirkstoffe waren mit einer Ausnahme vergleichbar hohe Temperatureinflüsse auf die Wirksamkeit nachweisbar wie bei der Ameisensäure. Lediglich im Versuch mit dem EAV im unbelasteten Bereich lag im Vergleich zur Ameisensäure ein um den Faktor 4 reduzierter Temperaturfehler vor.

Das chlorabspaltende Präparat lieferte mit Ausnahme eines dreifach niedrigeren TF_K -Werts gegenüber dem EAV im Ansatz unter Eiweißbelastung ähnlich hohe Temperaturfehler, wie das Natriumhypochlorit.

Diskussionsgrundlagen bildeten die Unterschiede in der Höhe der Temperaturfaktoren zwischen den Testviren und den Ansätzen mit und ohne Eiweißzusatz als auch zwischen den chemischen Grundsubstanzen und den kommerziell erhältlichen Desinfektionsmitteln. Die unterschiedlich hohe Tenazität der Testvirusarten und die bestehenden Unterschiede im Eiweißfehler der verschiedenen Desinfektionsmittel, als auch die vorhandenen Zusatzstoffe wie Alkohole und quarternäre Ammoniumverbindungen in den im Handel erhältlichen Präparaten, wurden als mögliche Ursachen diskutiert.

Als Schlussfolgerung aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen wird empfohlen, bei der Prüfung der für den Tierhaltungsbereich vorgesehenen chemischen Desinfektionsmittel auf Viruzidie, den potentiellen Temperaturfehler zu berücksichtigen und eine Prüftemperatur von 10° C oder niedriger vorzusehen.

6. SUMMARY

The objective of this study was to determine the influence of temperature on the virucidal efficacy of various disinfectants. The disinfectants examined were formaldehyde, sodium hypochlorite, formic acid, peracetic acid and six commercially available disinfectants, all of which were chosen from the 10th List of Disinfectants issued by the German association of Veterinarians (DVG). Of these six substances currently obtainable in commerce three represent specimens containing aldehyde and one each containing peracetic acid, formic acid, and a chlorine releasing agent, respectively, as their main active ingredient. The investigations were performed in a suspension test as described in Section IV B of the Guidelines for the Examination of Chemical Disinfectants with (40% fetal calf serum) and without protein load. Bovine enterovirus (ECBO) and equine arteritis virus (EAV) were used as test viruses. All

studies were performed at temperatures of 20°C, 10°C and 4°C, respectively. Infectivity of the test viruses was quantified by titration experiments in susceptible cell cultures.

All disinfectants investigated lost some of their efficacy on enveloped and non-enveloped viruses at temperatures of 10°C and 4°C compared to their efficacy at 20°C (temperature failure). To compensate for this deficit it was necessary to increase the concentration of the disinfectant or to extend the time of exposition. To illustrate the loss of effectiveness at the lowest temperature (4°C), the ratios of the virucidal concentrations and times of exposition of the virus to the disinfectant at 4°C and 20°C were calculated and were denominated temperature factors K (TF_K) and E (TF_E). These values provided a direct measure for the degree of the loss of efficacy.

Among the active ingredients the efficacy of peracetic acid was the one that was least affected by temperature. At 4°C the same concentrations were virucidally effective as at 20°C ($TF_K=1$), both with the ECBO virus and the EAV and both in the samples with protein and those without. The observed very minor diminution of the effectiveness could be compensated for by extending the time of exposition (TF_E of 4 for EAV and 2 for the ECBO virus). The virucidal efficacy of formaldehyde, sodium hypochlorite and formic acid proved to be much more temperature sensitive. The TF_K values of formaldehyde for both test viruses were 6, both for the samples with protein load and for those without. In the samples without protein load sodium hypochlorite had TF_K values of 2 (EAV) and 4 (ECBO virus). In the samples with protein load these values were 6 and 5, respectively. With formic acid TF_K values of 20 (samples without protein) and 6 (no protein) were determined for the EAV. For the ECBO virus the tests resulted in TF_K values of 4 with protein load and 2 when no protein was added.

Of the three aldehyde-containing commercially available disinfectants investigated two had TF_K values similar to formaldehyde when protein was added. With the third such substance no increase of the concentration ($TF_K=1$) but only an extension of the time of exposition ($TF_E=4$) was required for the EAV in protein-loaded samples. With the ECBO virus the TF_K value of 3 determined for this substance was also 3 points lower than for formaldehyde. For the samples without protein load it was possible to demonstrate a reduced drop of the efficacy due to the lower temperature with all three substances when compared to pure formaldehyde. The TF_K values were 3 to 4 points below those for formaldehyde. For the EAV only the extension of the duration of action was required in one case for the compensation ($TF_E=8$)

In comparison to pure peracetic acid the disinfectant produced on the basis of peracetic acid showed a significantly higher reduction in efficacy ($TF_K=10$) for the EAV in the loaded samples and an insignificantly higher reduction of efficacy ($TF_K=2.5$) for the ECBO virus in the unloaded samples. The other results were comparable to those attained with peracetic acid. With one exception the efficacies of the disinfectants, which contained organic acids as active ingredients, were affected by temperature similar to formic acid. Only in the test with EAV in the unloaded samples a temperature failure was determined, which was a factor of 4 lower than for formic acid.

With the exception of a threefold lower TF_K value for the EAV in the protein loaded test, the chlorine releasing agent produced temperature failures which were comparable to those of sodium hypochlorite.

A basis for discussion is presented by the differences in the levels of the temperature factors between the test viruses and the samples with and without protein load, as well as between the chemical agents and the commercially available disinfectants. The differential tenacity of the test viruses, the existing differences in the protein failure of the various disinfectants as well as additives to the commercially available products, such as alcohol and quaternary ammonia compounds, were discussed as possible causes.

As a conclusion drawn from the subject test results it was recommended to be aware of the potential temperature failure whenever examining the virucidal efficacy of chemical disinfectants to be used in the keeping of life stock, and to keep the temperature of the test at or below 10°C.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ARNDT, J. (1983): Desinfektion und Sterilisation in der tierärztlichen Praxis. Der prakt. Tierarzt, 64, 395-401.

ASCHL, H. (1980): Untersuchung zur Wirkung einiger Desinfektionsmittel bei Temperaturen unter und über dem Gefrierpunkt. Vet.med.Diss.Univ. Wien.

ASSOCIATION FRANCAISE DE NORMALISATION (AFNOR) (1981): Recueil de Normes francaises des antiseptiques et desinfectants Edite par l'AFNOR, Paris.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC) (1980): Official methods of analysis of the Association of Agricultural Chemists; 13th Edition, Washington.

AYLIFFE, G.A. (1989): Standardization of disinfectant testing. J.Hosp.Inf., 13, 211-216.

BECK, E.G., BORNEFF, J., GRÜN, L., GUNDERMANN, K.O. KANZ, E. LAMMERS, Th., MÜHLENS, K., PRIMAVESI, C.A., SCHMIDT, B., SCHUBERT, R., WEINHOLD, E. und WERNER, H.P. (1977): Empfehlungen für die Prüfung und Bewertung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsverfahren. I. Prüfung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsverfahren. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 165, 335-380.

BELLAMY, K. (1995): A review of the test methods used to establish virucidal activity. J.Hosp.Inf., 30 (Suppl.), 389-396.

BODE, R. (1981): Darstellung der Desinfektionsmittelpfung in Deutschland. Hyg.+Med., 6, 544-548.

BÖHM, R. (1987): Organische Säuren als Desinfektionsmittel. Fleischwirtschaft, 66, 976-979.

BORNEFF, J. (1971): Hygiene. Georg Thieme Verlag, Stuttgart; 108-111.

BORNEFF, J., WERNER, H.P., VAN DE VOORDE, H., REYBROUCK, G. (1975): Kritische Beurteilung der Prüfmethoden für chemische Desinfektionsmittel und –verfahren. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 160, 590-600.

BORNEFF,J., EGGERS, H.J., GRÜN, L., GUNDERMANN, K.O., KUWERT, E., LAMMERS, Th., PRIMAVESI, C.A., ROTTER, M., SCHMIDT-LORENZ, W., SCHUBERT, R., SONNTAG, H.G., SPICHER, G., TEUBER, M., THOFFERN, E., WEINHOLD, E., WERNER, H.P. (1981): Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren- erster Teilabschnitt. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 172, 534-562.

VANDEN BOSSCHE, G., STRAUCH, D. (1991): Zur Wirksamkeit von Flächendesinfektionsmitteln und ihrem Einsatz in der Tierhaltung. BL- Journal, 1; 110-126.

BUDDECKE, E. (1980): Grundriss der Biochemie. 6. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin.

BUNDESGESUNDHEITSAMT, BGA (1982): Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf die Wirksamkeit gegen Viren. Bundesgesundheitsblatt, 25, 397 und Kommentar zur Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes. Bundesgesundheitsblatt, 26, 413-415.

DEUTSCHES ARZNEIBUCH, DAB (1968): 7.Ausgabe. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE (DGHM) (1972): Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. 3.Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT (DVG) (1984): Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmitteln in der Veterinärmedizin, Gießen.

DEUTSCHE LANDWIRTSCHAFTGESELLSCHAFT (DLG) (1979): Desinfektion von Stallungen. Merkblatt DLG 159, Frankfurt/Main, 1-4.

DIETZ, P. und BÖHM, R. (1980): Ergebnisse der experimentellen Desinfektionsmittelprüfung an Milzbrandsporen. Hyg.+Med., 5, 103-107.

DOWES, A, BLUNT, T.P. (1877): Proc. roy. Soc., B 36 , 448.

DUTCH COMMITTEE OF PHYTOFARMACIE (1977): A collaborative study on the repeatability and the reproducibility of the Dutch Standard Suspensions-Test for the evaluation of disinfectants. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 164, 521-548.

DWYER, R.M. (1995): Disinfecting equine facilities. Rev.Sci.Tech., 14(2), 403-418.

EDELMEYER, H. (1982): Über Eigenschaften, Wirkmechanismen und Wirkungen chemischer Desinfektionsmittel. Arch.f.Lebensmittelhyg., 33, 1-11.

EDELMEYER, H. (1976): Desinfektionsverfahren. Fleischwirtschaft, 56, 4-50.

EGGENSPERGER, H. (1973): Desinfektionswirkstoffe und ihre Wirkungsmechanismen. Dtsch.Apoth.Ztg., 113, 785-791.

EGGENSPERGER, H. (1979): Desinfektionsmittel auf der Basis persäureabspaltender Verbindungen. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 168, 517-524.

EGGERS, H.J. (1990): Experiments on antiviral activity of hand disinfectants. Some theoretical and practical considerations. Zbl.Bakt., 273(1), 36-51.

FAUSER- LEIENSETTER, C. (2000): Verhalten und Desinfektion der Erreger der Europäischen und der Afrikanischen Schweinepest sowie der Maul- und Klauenseuche in Flüssigmist. Diss. Med. Vet. Univ. Gießen.

FISCHER, A. (1982): Versuche zur Absterbekinetik von *Bacillus cereus* Sporen unter dem Einfluss von Formaldehyd, Glutaraldehyd und deren Kombination. Diss.med.Karl-Marx-Univ. Leipzig.

FLAMM, H., ROTTER, M., KOLLER, W. und WEWALKA, G. (1983): 10.1.Desinfektion. In: Thofern, E. und Botzenhardt, K.: Hygiene und Desinfektion im Krankenhaus. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

FLEMMING, H.-C. (1984): Die Peressigsäure als Desinfektionsmittel. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 179, 97-111.

GRÜN, L. und HEYN, U. (1974): Der Serumfehler in der Desinfektionspraxis. Gesundheitswesen und Desinfektion, 66, 182-187.

HAHN, W. (1981): Desinfektionsmittel-Wirkungsweise, Wirkungsspektren und toxikologische Aspekte. Hyg.+Med., 6, 458-475.

HAYNES, R.H. (1964): Photochem. Photobiol., 3, 429.

HERBST, W., WEKERLE, J. und STRAUCH, D. (1990): Zur inaktivierenden Wirkung organischer Säuren auf Parvoviren bei verschiedenen Temperaturen. Hyg.+Med., 15, 313-317.

HERRE, A., WÖLFELE, A., KAUDERER, E., LÄCHELE, R. (1987): Untersuchung über den Einfluss von Temperatur, Wasserhärte und von Kochsalzzusatz auf die Wirkung von Desinfektionsmitteln. Abschlußbericht zum Forschungsauftrag 84HS020 am Inst. für Tiermedizin und Tierhygiene, Uni. Hohenheim.

HORN, H., PRIVORA, M. und WEUFFEN, W. (1974): Handbuch der Desinfektion und Sterilisation. Bd.3, Spezialgebiete der Desinfektion und Sterilisation, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.

HUDEMANN, H. und WEUFFEN, W. (1973): Leitfaden der Desinfektionspraxis. Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig.

JEFFREY, D.J. (1995): Chemicals used as disinfectants: active ingredients and enhancing additives. Rev.Sci.Tech., 14(1), 57-54.

JENTSCH, G. (1978): Pharmazie, Pharmakologie und Toxikologie der Desinfektionsstoffe 9.Wirkstoffgruppe: Perverbindungen. Hyg.+Med., 3, 125-127.

JONES, L.A., HOFFMANN, R.K. und PHILLIPS, C.R. (1967): Sporocidal Activity of Peracetic Acid and β - Propiolactone at subzero temperatures. Appl.Microbiol., 15, 357-362.

KELSEY, J.C. (1969): Disinfectants and Methods of testing. J.med.Lab.Technol., 26, 79-89.

KIRCHHOFF, H. (1974): Wirkungsmechanismen chemischer Desinfektionsmittel. Gesundheitswesen und Desinfektion, 66, 157-160.

KIRCHHOFF, H. (1968): Untersuchung über die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Virus an Oberflächen. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 3, 54-57.

KLARMANN (1950): zitiert in: WALLHÄUSER, K.H. (1984): Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung-Keimidentifizierung-Betriebshygiene. 4.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

VAN KLINGEREN, B. Standard-Suspensions-Test: Influence of Bovine Albumin, Saline and Water of Standard Hardness of M.E.-Values. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 176, 63-71.

KOCH, R. (1881): Über Desinfektion, Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. 1, 234.282.

KRAUS, B. (1983): Die experimentelle Prüfung verschiedener Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren auf Sporozidie im Modellversuch unter Berücksichtigung einiger Faktoren, die ihre Wirksamkeit beeinflussen. Vet.Med.Diss.Univ. Gießen.

KRETZSCHMAR, C., AGERTH, R., BAUCH, R., FRIEDRICH, D. (1972): Peressigsäure- nur ein neues Desinfektionsmittel?; Mh.Vet.med., 27, 324-332.

KUWERT, E. und SPICHER, G. (1983): Kommentar zur Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren. Bundesgesundheitsblatt, 26, 413-415.

LAUTENSCHLÄGER, G.L. und SCHMIDT, H. (1954): Sterilisationsmethoden für die pharmazeutische und ärztliche Praxis. Thieme Verlag, Stuttgart, 115.

LEIDIG, H. (1985): Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung der Stallsäure Sabona®- D zur Flächen- und Aerosoldesinfektion im Modellversuch. Diss.med.vet. Gießen.

LETTER (1994): "Disinfectants: the whats and wherefores". Nurs RSA, 9(11-12), 2.

LINTON, A.H., HUGO, W.B., RUSSEL, A.D. (1987): Disinfection in veterinary and farm animal practice. Blackwell Scientific Publications; Oxford.

MAHNEL, H. (1974): Viruzide Wirkung von Desinfektionsmitteln im Suspensionsversuch. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 87, 385-388.

MAHNEL, H. (1983): Desinfektion von Viren. Zbl.Vet.med., B, 30, 81-96.

MAHNEL, H. (1984): Virusdesinfektion in Labor und tierärztlicher Praxis. Tierärztl.Praxis, 12, 117-130.

MAYR, A. (1983): Der infektiöse Hospitalismus in der Tierproduktion. Der praktische Tierarzt, 64, 1081-1094.

MAYR, A., BACHMANN, P.A., BIBROCK, B. und WITTMANN, G. (1974): Virologische Arbeitsmethoden. Bd. 1- Zellkulturen, 35-39 und 43-46.

MEHLHORN, G. (1979): Lehrbuch der Tierhygiene. Gustav Fischer Verlag, Jena.

MERKA, V. und SOKOL, D. (1972): Zum Wirkungsmechanismus von Peressigsäure, Perameisensäure und Propionsäure. Z.ges.Hyg., 9, 638-641.

MOLDENHAUER, D. (1984): Quantitative Bewertung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen Viren im Suspensionsversuch. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 179, 544-554.

MONEV, W. (1972): Untersuchungen über Langzeitdesinfektionswirkung des O- Phenyl-Phenol an Oberflächen unterschiedlicher Porosität unter bestimmten mikroklimatischen Bedingungen. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A, 221, 274-279.

MROZEK, H. (1976): Anforderungen an die Wirksamkeit von Desinfektionsverfahren und Grenzen der Realisierbarkeit. Fleischwirtschaft, 56, 195-198.

MÜCKE, H. (1977): Untersuchung über Einflüsse auf die Zersetzung von verdünnter Peressigsäure. Pharmazie, 32, 613-619.

PAVLAS, M. (1967): Anwendung einiger neuer Desinfektionspräparate bei der Sanierung eines mit Tuberkulose verseuchten Milieus. Ceskoslov.Epidemiol.Mikrobiol.Immunol., 16, 228-236, zitiert nach THIEL, N. (1977).

PETZOLDT, K. (1977): Kompendium der veterinärmedizinischen Mikrobiologie. Teil I: Allgemeine Mikrobiologie und Seuchenlehre einschließlich der Immunologie. Verlag M. u. H. Schaper, Hannover.

POWELL und BRIDGES zitiert in WALLHÄUSER, K.H. (1984): Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung-Keimidentifizierung-Betriebshygiene. 4.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

RATHMACHERS, B. und BORNEFF, M. (1977): Entwicklung einer neuen Prüfmethode für Flächendesinfektionsverfahren, IV.Mittl.: Natürliche Absterberate und deren Beeinflussung durch Umgebungsfaktoren. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 165, 43-59.

REBER, H. (1973): Desinfektion: Vorschlag für eine Definition. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 157, 421-438.

REBER, H. (1981): Vorschriften und Anforderungen an Desinfektionsmitteln im Lebensmittel- und Spitalbereich. Swiss Food, 3, 5-14.

REYBROUCK, G. (1974): Über die Standardisierung der Wertbestimmung von Flächendesinfektionsmethoden. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 158, 465.

REYBROUCK, G. (1986): Uniformierung der Prüfung von Desinfektionsmitteln in Europa. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 182, 485-498.

REYBROUCK, G. und VAN DE VOORDE, H. (1973): Erfahrungen bei der Standardisierung von Prüfmethoden. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 157, 542-548.

REYBROUCK, G. und WERNER, H.P. (1975): Vergleichende Untersuchung von vier nationalen Methoden zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 160, 392-411.

RHEINHABEN, F.v. und WOLFF, M.H. (1991): Anmerkung zur Stabilität und chemischen Desinfektion von Viren. Lab.Med., 15, 327-335.

ROLLE, M. und MAYR, A. (1984): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

ROTTER, M., SIMPSON, R. und KOLLER, W. (1998): Surgical hand disinfection with alcohols at various concentrations: parallel experiments using the new proposed European Standard Method. Inf.Con.and Hosp.Epidem., 10, 778-780.

RUDOLPH, A.S. und LEVINE, M. (1941): Factors affecting the germicidal efficiency of hypochlorite solutions. Iowa Eng. Exp. Sta. Bull., 150.

SANDS, J.A., LANDIN, P., AUPERIN, D. (1979): Enveloped virus inactivation by fatty acid derivatives. Antimicrob. Agents Chemother., 15; 134-136

SCHLIESSER, Th. (1974): Zum Problem der Stalldesinfektion. Tierärztl. Praxis, 2, 1-8.

SCHLIESSER, Th. (1975): Tierarzt und Desinfektion. Tierärztl. Umschau, 30, 319-324.

SCHLIESSER, Th. (1981): Grundlagen der Desinfektion. In: Schliesser, Th. und Strauch, D.: Desinfektion in der Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft. 1. Aufl., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

SCHLIESSER, Th. und WEBER, A. (1977): Grundlagen der Desinfektion. Der prakt. Tierarzt, Sonderdruck aus "Collegium Veterinarium", 66-70.

SCHLIESSER, Th. und WIEST, J.M. (1979): Zur Temperaturabhängigkeit der bakteriziden Wirkung einiger chemischer Desinfektionsmittel. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B., 196, 560-566.

SCHMIDT, B. (1972): Probleme der Beurteilung chemischer Desinfektionsmittel auf ihre Wirksamkeit. Gesundheitswesen und Desinfektion, 64, 185-189.

SCHOENEMANN, W. (1986): Überprüfung der Viruzidie von Desinfektionsmitteln. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B., 182.

SCHULER, A. (1972): Desinfizieren im Schlachthof und dessen Fleischkühlräumen: womit?. Die Fleischwirtschaft, 52, 1268-1270.

SHIMAKOSHI, Y., SANO, K., NAKANO, T. und NAKAMURA, T. (1995): A micro-suspensions-test for evaluation of disinfectants against Human Immunodeficiency Virus. Kansenshogaku Zasshi, 69(5), 532-538.

SKINNER, G.R.B., BILLSTROM, M. und RANDALL, S. et al. (1998): Antiviral efficacy of disinfectant solution MRI-1. Intervirolog., 41, 238-243.

SPAERMANN, C.; KAERBER, G. zitiert nach MAYR et al. (1974): in: Virologische Arbeitsmethoden Band I. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

SPICHER, G. (1970): Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren unter besonderer Berücksichtigung der Faktoren, die ihre Wirksamkeit und Brauchbarkeit beeinflussen. Path.Mikrobiol., 36, 259-276.

SPICHER, G. (1973): Grundlagen der Desinfektion und Desinfektionsmittelpfung. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 157, 392-405.

SPICHER, G. und PETERS, J. (1980): Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln an Oberflächen in Modellversuchen. II.Mitt.: Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von der Methodik der Desinfektion (Sprühen, Verteilen, Wischen). Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 170, 431-448.

SPICHER, G. und PETERS, J. (1985): Grenzen der Anwendungsmöglichkeit von Desinfektionsmitteln auf der Grundlage von aktivem Sauerstoff. Hyg.+Med., 10, 49-52.

SPORKENBACH-HÖFFLER, J., WIEGERS, K.J. und DERNIECK, R. (1983): Untersuchung zum Mechanismus der Virusinaktivierung durch Persäuren. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 177, 469.

SPRINGTHORPE, U.S., SATTAR, S.A. (1990): Chemical disinfection of virus-contaminated surfaces. Crit.Rev.Environ.Control; 20; 169-229

SPRÖSSIG, M. (1979): Anwendungsmöglichkeiten der Peressigsäure für die Desinfektion und Sterilisation. Hyg.+Med., 4, 294-299.

SPRÖSSIG, M. (1989): Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten der Peressigsäure-25 Jahre Erfahrung und Entwicklung. Hyg.+Med., 14, 498-501.

SPRÖSSIG, M., MÜCKE, H. und HEYDENREICH (1981): Virusdesinfektion – Anforderungen und Möglichkeiten. Hyg.+Med., 6, 449-453.

STEIGER, A. (1982): Desinfektion. Gustav Fischer Verlag, Jena.

STELLMACHER, W., SCHOLZ, K. und PREISLER, K. (1974): Desinfektion. 2.Aufl., VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

STELLMACHER, W., SCHWEBS, M. und SOMNITZ, M. (1973): Einwirkungen verschiedener Temperaturen auf Desinfektionsmittellösungen. Arch.exper.Vet.med., 27, 341-347.

STEUER, W. und LUTZ-DETTINGER, U. (1990): Leitfaden der Desinfektion, Sterilisation und Entwesung. 6.Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

STRAUCH, D. (1981): Reinigung und Desinfektion in der Tierhaltung. In: Schliesser: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft.

STRAUCH, D., BÖHM, R., PHILLIP, W., WECKERLE, J. (1987): Zum Stand der Stall-, Dung- und Gülledesinfektion, Teil 1. Tierärztl. Umschau, 42, 94-102.

SYKES, G. (1965): Disinfection and Sterilization; 2nd Edition, E. and F.N. Spon, Ltd.London.

SYKES, G. (1967): Disinfection- How, Why, When, Where ?. J.appl.Bact., 30, 1-5.

TAMASI, G. (1995): Testing disinfectants for efficacy. Rev.Sci.Tech., 14(1), 75-79.

THIEL, N. (1977a): Zum Einfluss von Stallklimafaktoren auf die Desinfektion. Tierärztl.Umschau, 4, 200-204.

THIEL, N. (1977c): Zur Bedeutung der Temperatur bei der Desinfektion. Dtsch.Tierärztl.Wschr., 84, 356-364.

THIEL, N. (1978/79): Die Bedeutung des Milieus bei der Stalldesinfektion. I.Mitt.: Der Einfluss von Komponenten des Stallmilieus auf die Desinfektion. II.Mitt.: Die Planung und die Durchführung der Stalldesinfektion unter Berücksichtigung des Stallmilieus. Der prakt.Tierarzt, 59/60, 850-862/50-58.

TRAUTWEIN, K. und KRÜGER, G. (1977): Desinfektion in der Veterinärhygiene-Theorie und Praxis. Tierärztl.Umschau, 32, 3-12, 60-74, 124-132.

WALLHÄUSER, K.H. (1984): Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung-Keimidentifizierung-Betriebshygiene. 4.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

WEGENER, G. (1977): Über Wirkungen und Nebenwirkungen chemischer Desinfektionsmittel. Alimenta, 16, 183-189.

WEKERLE, J. et al. (1986): Chemische Desinfektion von Aujeszky- Virus in Schweinegülle. Tierärztl. Umschau, 41, 862-869.

WEKERLE, J. (1989): Untersuchung zur viruziden Wirkung organischer Säuren. Hyg.+Med., 14, 69-71.

WELLINGER, A. (1983): Umfrage über den Einsatz von Stalldesinfektionsmitteln in der Schweinehaltung. Schweiz. Arch. Tierheilk., 125, 545-552.

WERNER, H.P., REYBROUCK, G. und WERNER, G. (1975): Ein Vergleich der Ergebnisse von 4 nationalen Methoden zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in 2 Laboratorien. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 160, 368-391.

WERNER, H.P. und REYBROUCK, G. (1976): Zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in Europa. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Ref.Bd.250, 97-117.

WEUFFEN, W., WIGERT, H., FRIEDMANN, J. und TREUHOFF, I. (1970): Zur Terminologie auf dem Gebiet der Desinfektion. Z.ges.Hyg., 16, 72-77.

WIEST, J.M. (1978): Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur auf die bakterizide Wirkung chemischer Desinfektionsmittel. Vet.med.Diss.Univ. Gießen.

WIGGERT, MACHMERTH, CERNY (1974): zitiert in: WALLHÄUSER, K.H. (1984): Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung-Keimidentifizierung-Betriebshygiene. 4.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

WILLINGER, H. (1972): Desinfektion. In: Roots-Haupt-Hartwick: Veterinärhygiene, 2.Aufl., Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg.

WILLINGER, H. und THIEMANN, G. (1972): Kritische Beurteilung der Desinfektionswirkstoffe im Veterinärmedizinischen Bereich. Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.B, 156, 145-156.

WITTMANN, G. (1967): Die Inaktivierung des MKS- Virus unter besonderer Berücksichtigung der Tenazität... Sonderabdruck der "Schweizer Archiv für Tierheilkunde". Bd.109, 6, 313-323.

WOOD, A. und PAYNE, D. (1998): The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses. J.Hosp.Inf., 38, 283-295.

WOOLWINE, J.D. und GERBERDING, J.L. (1995): Effect of testing method on apparent activities of antiviral disinfectants and antiseptics. Antimicrob.Agents.Chem., 39(4), 921-923.

WORSEK, M. (1960): Einwirkung ionisierender Strahlen auf Bakterien. Isotopentechnik 1, 77-82.

Tabellarischer Anhang:

Tabelle 1: Viruzide Wirksamkeit von Aldekol-Des-02 im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten			
						[min]			
						15	30	60	120
EAV	0,05	20	ohne	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
	0,1	20	mit	1	6,0	3,0	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	5,25	3,25	<1,5	<1,5
	0,05	10	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	4,75	3,5	<1,5	<1,5
	0,5	10	mit	1	6,5	2,75	<2,5	<2,5	<2,5
				2	6,5	3,75	<2,5	<2,5	<2,5
	0,05	4	ohne	1	6,0	4,25	2,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	5,25	4,5	3,0	<1,5
	0,5	4	mit	1	6,5	4,0	3,5	<2,5	<2,5
				2	6,5	5,5	4,75	3,25	<2,5
ECBO	0,5	20	ohne	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,5	2,25	1,75	<1,5	<1,5
	1,0	20	mit	1	6,0	4,25	3,5	<2,5	<2,5
				2	6,0	4,0	<2,5	<2,5	<2,5
	1,0	10	ohne	1	6,5	3,5	2,75	<2,5	<2,5
				2	6,0	2,75	<2,5	<2,5	<2,5
	2,0	10	mit	1	6,5	5,5	5,25	4,75	<3,5
				2	6,0	4,75	4,25	3,25	<2,5
	1,0	4	ohne	1	6,5	3,0	3,0	<2,5	<2,5
				2	6,0	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
	6,0	4	mit	1	6,5	5,75	4,75	3,5	<2,5
				2	6,5	5,75	4,0	<2,5	2,5

Tabelle II: Viruzide Wirksamkeit von Ameisensäure im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten			
						[min]			
						15	30	60	120
EAV	0,1	20	ohne	1	6,0	3,75	2,25	<1,5	<1,5
				2	6,25	5,0	3,75	2,75	<1,5
	0,5	20	mit	1	6,25	4,25	3,5	2,5	<1,5
				2	6,75	4,0	2,5	<1,5	<1,5
	2,0	10	ohne	1	6,75	5,75	5,0	4,25	<2,5
				2	6,75	5,75	4,75	3,5	<2,5
	3,0	10	mit	1	6,75	5,5	4,25	3,25	<2,5
				2	7,0	5,25	4,5	3,0	<2,5
	2,0	4	ohne	1	6,75	5,75	5,0	4,25	<2,5
				2	7,0	6,0	5,25	4,25	<2,5
	3,0	4	mit	1	6,75	5,5	4,75	3,5	<2,5
				2	7,0	5,75	5,0	3,75	<2,5
ECBO	0,5	20	ohne	1	6,25	2,5	2,5	<1,5	<1,5
				2	6,5	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,5	20	mit	1	6,25	4,75	4,25	<1,5	<1,5
				2	6,75	3,5	3,0	<1,5	<1,5
	0,5	10	ohne	1	6,0	4,25	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,5	5,25	3,25	<1,5	<1,5
	1,0	10	mit	1	6,0	2,75	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	5,0	3,5	<1,5	<1,5
	0,5	4	ohne	1	6,0	5,25	4,0	1,75	<1,5
				2	6,75	4,75	3,0	<1,5	<1,5
	1,0	4	mit	1	6,0	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	4,0	2,75	<1,5	<1,5

Tabelle III: Viruzide Wirksamkeit von Divosan im Suspensionsversuch

Test- virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweiß- belastung [40% FKS]	Versuchs- Nr.	Virus- kontrolle [log 10 KID ₅₀ / ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten				
						[min]				
						15	30	60	120	
EAV	0,05	20	ohne	1	5,75	1,75	<1,5	<1,5	<1,5	
				2	6,0	2,75	<1,5	<1,5	<1,5	
	0,1	20	mit	1	6,0	4,5	3,5	3,0	<1,5	
				2	6,25	2,75	2,0	<1,5	<1,5	
	0,05	10	ohne	1	6,75	4,75	3,75	2,75	<1,5	
				2	6,25	4,25	2,5	1,75	<1,5	
	0,5	10	mit	1	7,0	3,75	<2,5	<2,5	<2,5	
				2	6,75	3,0	<2,5	<2,5	<2,5	
	0,1	4	ohne	1	6,75	3,5	3,25	2,0	<1,5	
				2	6,5	3,5	3,25	1,75	<1,5	
	0,5	4	mit	1	7,25	3,75	2,75	<2,5	<2,5	
				2	6,25	4,0	3,75	<2,5	<2,5	
	ECBO	0,5	20	ohne	1	6,75	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
					2	6,0	2,75	<2,5	<2,5	<2,5
		1,0	20	mit	1	6,0	5,5	4,5	3,5	<2,5
2					6,0	5,25	4,25	3,25	<2,5	
0,5		10	ohne	1	7,5	4,25	<2,5	<2,5	<2,5	
				2	6,0	4,5	3,0	2,75	<2,5	
5,0		10	mit	1	6,5	5,75	5,0	4,0	<2,5	
				2	6,75	6,0	4,5	3,5	<2,5	
1,0		4	ohne	1	6,0	5,5	3,5	<2,5	<2,5	
				2	6,5	5,75	4,25	3,0	<2,5	
6,0		4	mit	1	6,5	5,0	3,5	<2,5	<2,5	
				2	6,75	6,5	4,75	3,5	<2,5	

Tabelle IV: Viruzide Wirksamkeit von Formaldehyd im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten				
						[min]				
						15	30	60	120	
EAV	0,5	20	ohne	1	6,25	4,5	3,75	2,25	<1,5	
				2	6,5	4,75	3,75	3,0	<1,5	
	0,5	20	mit	1	6,0	4,25	3,5	2,0	<1,5	
				2	6,25	4,75	3,75	2,5	<1,5	
	2,0	10	ohne	1	6,0	5,5	4,75	4,5	<2,5	
				2	6,75	5,75	5,5	4,5	<2,5	
	2,0	10	mit	1	6,25	5,0	4,75	4,5	<2,5	
				2	6,75	5,5	5,0	4,75	<2,5	
	3,0	4	ohne	1	6,75	6,0	5,25	4,0	<3,5	
				2	6,75	5,75	4,75	<3,5	<3,5	
	3,0	4	mit	1	6,75	6,0	5,0	4,25	<3,5	
				2	7,0	6,25	5,5	4,0	<3,5	
	ECBO	0,5	20	ohne	1	6,0	4,0	3,0	<2,5	<2,5
					2	6,75	4,0	2,75	<2,5	<2,5
		0,5	20	mit	1	6,5	3,25	2,75	<2,5	<2,5
2					6,75	4,0	2,5	<2,5	<2,5	
1,0		10	ohne	1	6,25	4,25	4,0	<2,5	<2,5	
				2	6,75	5,75	4,5	3,75	<2,5	
2,0		10	mit	1	6,5	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5	
				2	6,75	4,75	4,0	<3,5	<3,5	
3,0		4	ohne	1	6,75	5,0	4,5	<3,5	<3,5	
				2	6,75	5,75	4,75	4,0	<3,5	
3,0		4	mit	1	6,75	5,25	4,5	4,0	<3,5	
				2	6,75	6,25	4,75	4,25	<3,5	

Tabelle V: Viruzide Wirksamkeit von Halamid im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten			
						[min]			
						15	30	60	120
EAV	0,05	20	ohne	1	6,25	3,5	2,5	2,0	<1,5
				2	6,5	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,5	20	mit	1	6,0	3,5	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,5	3,0	2,5	<1,5	<1,5
	0,05	10	ohne	1	6,75	2,5	2,25	<1,5	<1,5
				2	6,5	2,25	1,75	<1,5	<1,5
	0,5	10	mit	1	6,5	3,5	3,0	2,5	1,75
				2	6,25	2,5	2,0	1,75	<1,5
	0,05	4	ohne	1	6,5	3,0	2,25	1,75	<1,5
				2	6,75	2,0	1,75	<1,5	<1,5
	1,0	4	mit	1	6,25	2,25	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,75	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
ECBO	2,0	20	ohne	1	6,0	4,75	3,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	4,0	3,75	<1,5	<1,5
	3,0	20	mit	1	6,25	4,5	3,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	3,5	2,75	<1,5	<1,5
	4,0	10	ohne	1	6,5	5,5	4,75	3,5	<1,5
				2	6,75	5,5	4,75	3,25	<1,5
	10,0	10	mit	1	6,75	5,25	4,75	4,0	2,5
				2	6,75	5,0	4,5	3,75	2,5
	10,0	4	ohne	1	6,75	5,75	4,75	2,5	<1,5
				2	6,75	5,25	4,75	4,0	2,5
	10,0	4	mit	1	6,5	5,5	4,5	3,75	2,75
				2	6,75	5,75	5,25	4,75	3,25

Tabelle VI: Viruzide Wirksamkeit von Natriumhypochlorit im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten			
						[min]			
						15	30	60	120
EAV	0,05	20	ohne	1	6,0	4,5	3,75	2,0	<1,5
				2	6,5	3,5	2,5	<1,5	<1,5
	0,5	20	mit	1	6,0	3,5	2,25	<1,5	<1,5
				2	6,75	5,5	3,5	3,0	<1,5
	0,1	10	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	3,0	2,25	<1,5	<1,5
	2,0	10	mit	1	6,75	4,75	4,25	3,0	<2,5
				2	7,0	5,0	4,5	3,5	<2,5
	0,1	4	ohne	1	6,0	3,75	3,0	1,75	<1,5
				2	6,75	4,25	3,75	2,0	<1,5
	3,0	4	mit	1	7,0	5,0	4,0	3,25	<2,5
				2	6,75	4,75	4,0	3,5	<2,5
ECBO	0,25	20	ohne	1	6,75	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	3,75	2,75	1,75	<1,5
	1,0	20	mit	1	6,5	4,0	3,5	2,0	<1,5
				2	6,75	4,5	3,75	3,25	<1,5
	0,25	10	ohne	1	6,0	2,0	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,5	3,75	3,5	1,75	<1,5
	2,0	10	mit	1	6,5	5,25	4,0	2,5	<2,5
				2	6,75	5,75	3,75	2,75	<2,5
	1,0	4	ohne	1	6,75	3,0	2,0	1,75	<1,5
				2	6,75	4,75	3,75	3,0	<1,5
	5,0	4	mit	1	6,75	5,0	5,0	4,5	3,25
				2	6,75	4,75	4,75	4,0	3,75

Tabelle VII: Viruzide Wirksamkeit von Orbivet im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten			
						[min]			
						15	30	60	120
EAV	0,05	20	ohne	1	6,25	2,0	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,5	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,5	20	mit	1	5,75	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
	0,1	10	ohne	1	6,25	5,0	4,25	3,5	<1,5
				2	6,25	3,5	2,0	<1,5	<1,5
	0,5	10	mit	1	6,25	3,75	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	2,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,1	4	ohne	1	5,75	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,5	3,75	2,75	<1,5	<1,5
	0,5	4	mit	1	6,0	2,25	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,25	3,75	2,75	<1,5	<1,5
ECBO	1,0	20	ohne	1	6,5	5,0	3,25	<2,5	<2,5
				2	6,0	5,0	4,0	<2,5	<2,5
	1,0	20	mit	1	6,0	4,5	4,25	3,0	<2,5
				2	6,0	5,5	4,5	2,75	<2,5
	2,0	10	ohne	1	6,5	4,75	3,75	<2,5	<2,5
				2	6,0	4,75	3,5	3,0	<2,5
	2,0	10	mit	1	6,5	5,75	5,25	3,5	<2,5
				2	6,0	5,75	3,5	<2,5	<2,5
	3,0	4	ohne	1	6,25	5,5	5,0	3,5	<2,5
				2	6,25	4,75	4,5	2,75	<2,5
	3,0	4	mit	1	6,25	5,25	4,75	3,5	<2,5
				2	6,25	5,5	5,25	3,25	<2,5

Tabelle VIII: Viruzide Wirksamkeit von Peressigsäure im Suspensionsversuch

Test-virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweißbelastung [40% FKS]	Versuch-Nr.	Viruskontrolle [log 10 KID ₅₀ /ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten [min]			
						15	30	60	120
EAV	0,005	20	ohne	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
	0,01	20	mit	1	6,0	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	2,5	1,75	1,75	<1,5
	0,005	10	ohne	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
	0,01	10	mit	1	6,25	3,0	3,0	2,75	<1,5
				2	6,25	2,25	1,75	<1,5	<1,5
	0,005	4	ohne	1	5,75	1,75	1,75	<1,5	<1,5
				2	6,75	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,01	4	mit	1	5,75	3,0	3,0	2,5	<1,5
				2	6,75	3,0	2,5	<1,5	<1,5
ECBO	0,01	20	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
	0,01	20	mit	1	6,0	2,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	3,5	3,0	2,75	<1,5
	0,01	10	ohne	1	5,75	4,25	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	2,25	<1,5	<1,5	<1,5
	0,01	10	mit	1	5,75	4,75	3,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	5,5	3,75	3,0	<1,5
	0,01	4	ohne	1	6,0	4,75	3,5	<1,5	<1,5
				2	6,5	3,5	2,0	<1,5	<1,5
	0,01	4	mit	1	6,0	5,25	4,75	4,25	<1,5
				2	6,75	5,5	4,25	3,75	<1,5

Tabelle IX: Viruzide Wirksamkeit von Proxitane im Suspensionsversuch

Test- virus	Konzentration des DM [%]	Temperatur [°C]	Eiweiß- belastung [40% FKS]	Versuchs- Nr.	Virus- kontrolle [log 10 KID ₅₀ / ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten [min]			
						15	30	60	120
EAV	0,05	20	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
	0,1	20	mit	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	2,25	<1,5	<1,5	<1,5
	0,05	10	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	0,5	10	mit	1	7,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	5,5	4,5	<1,5	<1,5
	0,05	4	ohne	1	5,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	1,75	<1,5	<1,5	<1,5
	1,0	4	mit	1	7,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
				2	6,75	3,0	<2,5	<2,5	<2,5
ECBO	0,1	20	ohne	1	6,5	4,25	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,25	2,25	<1,5	<1,5	<1,5
	0,25	20	mit	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
	0,1	10	ohne	1	6,5	6,25	5,25	3,75	<1,5
				2	6,25	4,75	1,75	1,75	<1,5
	0,25	10	mit	1	6,25	2,75	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,0	3,75	3,0	2,0	<1,5
	0,25	4	ohne	1	6,0	3,0	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,5	4,25	2,75	<1,5	<1,5
	0,25	4	mit	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
				2	6,75	5,25	3,25	<1,5	<1,5

Tabelle X: Viruzide Wirksamkeit von Venno Vet 1 Super im Suspensionsversuch

Test- virus	Konzen- tration des DM [%]	Tempe- ratur [°C]	Eiweiß- belast- ung [40% FKS]	Ver- suchs- Nr.	Virus- kontrolle [log 10 KID ₅₀ / ml]	Infektionstiter in log 10 KID ₅₀ /ml der Reaktionsgemische nach verschiedenen Einwirkungszeiten [min]				
						15	30	60	120	
EAV	0,01	20	ohne	1	6,25	4,0	2,25	1,75	<1,5	
				2	6,25	3,75	2,25	<1,5	<1,5	
	0,1	20	mit	1	7,5	4,75	2,5	<1,5	<1,5	
				2	6,5	4,5	2,0	<1,5	<1,5	
	0,01	10	ohne	1	6,25	4,5	3,5	3,0	<1,5	
				2	6,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
	0,5	10	mit	1	6,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
				2	6,75	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
	0,05	4	ohne	1	6,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
				2	6,75	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
	0,5	4	mit	1	7,0	3,0	2,75	1,75	<1,5	
				2	6,25	2,0	<1,5	<1,5	<1,5	
	ECBO	0,5	20	ohne	1	6,75	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
					2	6,5	2,0	<1,5	<1,5	<1,5
		1,0	20	mit	1	6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
2					6,25	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
0,5		10	ohne	1	6,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
				2	6,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	
1,0		10	mit	1	6,5	4,75	2,0	<1,5	<1,5	
				2	6,5	4,5	3,75	<1,5	<1,5	
0,5		4	ohne	1	6,75	2,25	<1,5	<1,5	<1,5	
				2	6,25	2,5	1,75	<1,5	<1,5	
2,0		4	mit	1	6,75	4,75	3,75	<1,5	<1,5	
				2	6,0	3,5	2,75	<1,5	<1,5	